E&A

Ano 1945

Tomo 42

Fascículo 1

IMP. INST. ... LIBRARY
28 JUL 1947
... C.S.A.7
P 8.5 Wernec
Rod 5/2/46

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1945
IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — BRASIL

ÍNDICE

Tomo 42 Fevereiro, 1945 Fasciculo 1

	Páginas
MONTEIRO, ESTACIO — Nota sôbre Tuberculinas	1-10
CERQUEIRA, N. L. e PARAENSE, W. LOBATO — Uma nova espécie de Aedes, transmissora de *Plasmodium gallinaceum*	11-15
CAUSEY, O. R. e DAMASCENO, R. G. — Estudo sôbre flebotomus no vale Amazônico. Parte II. Descrição de F. Dunhami, F. Melloi e F. Wagleyi. (Diptera, Psychodidae)	17-29
MONTEIRO, ESTACIO — Influência da Glicose no cultivo do pneumococo	31-39
MAGALHÃES, OCTAVIO DE — Ensaios de micologia. Contribuição ao conhecimento dos cogumelos patogênicos em Minas Gerais	41-55
LACORTE, J. GUILHERME e SANTOS, MÁRIO — A pesquisa bacteriológica *post-mortem*	57-74
XAVIER, ANTONIO AUGUSTO e SALLES, JONIO F. DE — O aparelho muscular dos Proglotes de Taenia Saginata	75-79
PARAENSE, W. LOBATO — A transmissão de *Plasmodium gallinaceum* pelo *Aedes (Ochlerotatus) lepidus*	81-84
WERNECK, FABIO LEONI — Os Tricodectídeos dos Roedores (Mallophaga)	
TRAVASSOS, LAURO — Relatório da excursão do Instituto Oswaldo Cruz ao Rio Paraná (Pôrto Cabral), em março e abril de 1944	151-165
VILLELA, GILBERTO G. e HARGREAVES, ALBERTO B. — Estudos sôbre a dosagem microbiológica das vitaminas do complexo B — I. Riboflavina	167-176
AZEVEDO, A. PENNA DE — Incidência do reumatismo (febre reumática, reumatismo infecioso específico) no Rio de Janeiro	177-181
VILLELA, GILBERTO G. e HARGREAVES, ALBERTO B. — Estudos sôbre a dosagem microbiológica das vitaminas do complexo B — II. Niacina	183-190
OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE — Classificação hidrobiológica das águas do Oceano Atlântico no litoral do Brasil	191-206
SALLES, JÔNIO F. DE e JANSEN, JETH — Xenodiagnóstico na Habronemose dos Equídeos. Estudo das larvas do helminto	207-215
PEREIRA, PAULO CERQUEIRA R. — As leprolinas Souza-Araujo — Seu emprêgo — Resultados em comparação com a reação de Mitsuda	217-221
MELLO, MARIA ISABEL — Estudos e revisão dos principais testes para diagnóstico da gravidez	223-242
MAGALHÃES, BERNARDO FIGUEIREDO e FREIRE, S. AMERICANO — O eletrocardiograma na Doença de Chagas experimental	243-261
COUTINHO, J. O. — Contribuição para o estudo dos vetores de malária no Brasil. *Anopheles (Nyssorhynchus) Darlingi* Root, em Campos, no Estado do Rio	263-280

As **MEMÓRIAS,** órgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, editadas sob a direção do Dr. H. C. de Souza-Araujo, são reservadas, exclusivamente, à publicação de trabalhos nêle realizados, e aparecerão em fascículos bimensais ou trimensais.

Tôda a correspondência deverá ser dirigida à:

REDAÇÃO DAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 — ENDERÊÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS", RIO
RIO DE JANEIRO — BRASIL

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 42 Fevereiro, 1945 Fascículo 1

Nota sobre Tuberculinas

por

Estácio Monteiro

Um dos fenomenos alérgicos mais conhecidos é a reação da tuberculina. Êste produto foi descoberto por KOCH (14, 15 e 16) em 1890, tendo em vista principalmente o tratamento da tuberculose. A generalização, logo após sua descoberta, desta terapêutica, foi rápida, porém os resultados, em muitos casos, não corresponderam à expectativa, pois suas indicações não estavam ainda estabelecidas. Atualmente é empregada quase que exclusivamente em certos casos de infecção crônica e principalmente nas localizações oculares. Os fracassos desta terapêutica são devidos a que o organismo infetado reage de maneira intensa e violenta, mesmo a pequenas doses. Esta sensibilidade, que é específica, permitiu o emprêgo da tuberculina como um alergeno em testes cutâneos para verificação dos indivíduos sensíveis.

Têm sido propostas diversas técnicas para praticar a reação, porém o método da cuti-reação de VON PIRQUET (27) e o da intradermo-reação de MANTOUX (22) são os mais usados em medicina humana. Para os detalhes sôbre estas técnicas e interpretação dos resultados aconselhamos o trabalho de SUTHERLAND (26).

PREPARO DA TUBERCULINA

A tuberculina obtida por KOCH consiste em um caldo de carne peptonado a 1 % e glicerinado a 5 %, com pH ligeiramente alcalino, no qual se de-

* Recebido para publicação a 28 de julho de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

senvolveu o bacilo da tuberculose durante 2 meses, filtrado e concentrado por evaporação ao décimo. Êste produto é o que se denomina "tuberculina bruta".

Com o fim de obter produtos melhores, diversos pesquisadores propuseram modificações de técnica muito variáveis. Quanto aos meios de cultura foram indicadas não só pequenas modificações tendo por base o meio proposto por KOCH (tal como empregar carne de vitela, etc.) como também o emprêgo de meios sintéticos, como os de SAUTON (24), CALMETTE, MASSOL e BRETON (6), ARMAND-DELILLE, MAYER, SCHAEFFER e TERROINE (1), DORSET (9), LONG (20), etc. Outras modificações, como o tempo de permanência na estufa, a filtração e o modo de concentração, são de pouca importância, pois, de um modo geral, seguem os mesmos preceitos observados por KOCH. No entanto, o emprêgo de determinadas amostras tem importância considerável devido a que nem tôdas as amostras de bacilo de KOCH produzem tuberculinas ativas. Atualmente as amostras do tipo humano RATTI e do tipo bovino VALLÉE têm sido muito referidas na literatura, como amostras tuberculígenas por excelência (3). Realmente estas amostras produzem uma tuberculina muito ativa e devem ser empregadas de preferência. Muitos autores aconselham usar amostras do tipo humano e do tipo bovino e misturar os produtos finais em partes iguais ou 2/3 da do tipo humano e 1/3 da do tipo bovino e viceversa. Sôbre esta questão diversos pesquisadores acham imprescindível o preparo da tuberculina com bacilos dos dois tipos, pois acham que nos casos de infecção pelo bacilo bovino, como também na imunização pelo B. C. G., a tuberculina produzida com germes do mesmo tipo provoca reações mais intensas. No entanto, tem sido verificado que há um excesso neste ponto de vista, pois muitas amostras do tipo humano dão tuberculinas que reagem de modo idêntico nestes casos, naturalmente devido a que as diferenças entre os dois tipos são mínimas (GERSHENFELD, 1939) (11). Um dos trabalhos que mostra a grande quantidade de modificações que têm sido propostas é o de CALMETTE e DE POTTER (5).

Entretanto, alguns pesquisadores não se limitaram sòmente às variações acima esboçadas. Procuraram purificar e obter o princípio ativo da tuberculina em estado puro. SEIBERT, LONG e outros (21), desde 1926, vêm publicando os resultados de suas pesquisas neste sentido, sendo que sòmente em 1934 (25) relataram ter obtido um produto uniforme e de muita atividade denominado "Purified protein derivative" ou "P. P. D.". E' obtido a partir de uma tuberculina preparada em meio sintético eliminando as proteínas não ativas por processos de precipitação.

Desde o início de 1942 viemos, sob orientação do Dr. J. G. Lacorte, preparando tuberculina no Instituto Oswaldo Cruz e temos procurado obter

um produto com o máximo de atividade e que conserve esta propriedade durante um tempo longo. De começo empregamos a técnica de KOCH com pequenas modificações e em seguida fomos fazendo experiências usando diversos meios. Experimentamos o caldo glicerinado preparado com carne de vitela e com extrato de carne (LIEBIG) e também os meios sintéticos de SAUTON, de LONG e de DORSET. O meio que deu melhores resultados foi o meio de DORSET não só pela atividade da tuberculina obtida como também pela facilidade de preparo e crescimento rápido e abundante. Êste meio usa como fonte de nitrogênio a asparagina, entrando também em sua composição o citrato de ferro e a glicose que, segundo trabalhos de HENLEY (12, 13), têm influência acentuada no crescimento do bacilo de KOCH.

A técnica que temos adotado é a seguinte, em linhas gerais:

Os germes do tipo humano (amostra RATTI) e do tipo bovino (amostra VALLÉE) são conservados em batata por semeaduras bimensais e na ocasião do preparo da tuberculina fazemos culturas em pequenos balões contendo meio de DORSET com o fim de adaptar a amostra ao meio líquido.

O meio que temos empregado últimamente não é preparado rigorosamente segundo a técnica de DORSET, pois temos introduzido modificações com o fito de facilitar o manejo de grandes volumes. A fórmula do meio que temos usado é a seguinte:

Asparagina	10,0 g
Fosfato dipotássico	1,0 "
Citrato de sódio	0,75 "
Sulfato de magnésio	1,5 "
Citrato de ferro	0,3 "
Glicose	10,0 "
Glicerina	100 cc.
Água	1000 cc.

Colocamos todos os ingredientes, exceto a glicerina, para dissolução, em certa quantidade de água, e aquecemos até dissolver completamente; em seguida completamos o volume com água e juntamos a glicerina. Ajusta-se a reação ao pH 7,2 a 7,4 com solução de soda a 5%. Leva-se, então, o líquido à autoclave e aquece-se até a pressão chegar a 1 atmosfera; em seguida apaga-se o fogo da autoclave e deixa-se esfriar. Desta maneira obtemos uma ligeira precipitação sem alterar a glicose. Filtra-se em papel de filtro para retirar o precipitado e reajusta-se o pH. Faz-se distribuição e esteriliza-se na autoclave à pressão de ½ atmosfera, durante 20 minutos.

A modificação essencial que introduzimos foi a diminuição da asparagina, pois DORSET recomenda 14 g por litro. Verificamos que, diminuindo a

asparagina até 10 g por litro, não se nota diferença apreciável, porém com menor quantidade o desenvolvimento não se processa com tanta intensidade, sendo mesmo difícil obter, com 2 meses e mais, induto cobrindo tôda a superfície do meio.

Logo que se tenha obtido crescimento nos balões pequenos, isto no fim de 25 a 30 dias, realizamos o repique retirando com a alça de platina um fragmento do induto. Usamos, então, garrafões de 8 litros de capacidade, de preferência de vidro Pyrex, com 2,5 litros de meio, inclinados de modo a obter o máximo de superfície. A escolha dêstes frascos foi devida à necessidade de grande quantidade de tuberculina, como também para evitar contaminações que se mostravam muito freqüêntes nos frascos tipo FERNBACH que usávamos anteriormente.

O desenvolvimento é rápido, cobrindo logo tôda a superfície do meio. Temos observado que neste meio o induto é muito espêsso, dando uma quantidade de germes muito maior que nos outros meios experimentados. Esta observação está de acôrdo com o trabalho de DORSET (9) que verificou, comparando nas mesmas condições o meio clássico de caldo de carne glicerinado com o meio sintético, obter-se neste último, em 100 cc. de meio, 2,0 g de bacilos secos, ao passo que no anterior sòmente 0,5 a 0,7 g.

Depois de 6 a 8 semanas de incubação a 37° C., esteriliza-se a cultura pelo vapor fluente, na autoclave, durante uma hora. Em seguida filtra-se em papel de filtro grosso a fim de separar os corpos bacilares e passa-se à fase seguinte da concentração. Para isso coloca-se o filtrado em placas de porcelana e em banho-maria fervente reduz-se o volume ao décimo. Filtra-se novamente em papel de filtro e procede-se à distribuição em âmpolas ou tubos capilares.

Em geral empregamos sòmente a amostra humana RATTI, porém temos juntado também 1/3 do volume de tuberculina da amostra VALLÉE. Os resultados obtidos têm sido idênticos quanto à atividade.

A tuberculina preparada pela técnica descrita tem se mostrado de grande atividade, não havendo quase variações nas diferentes partidas e quando conservada por longo tempo, mesmo à temperatura ambiente, não mostra perda em seu poder.

VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE

A verificação da atividade é um problema sôbre o qual os pesquisadores têm chamado a atenção com o intuito de têrmos tuberculinas uniformes. O ideal seria podermos representar a atividade por meio de unidades, porém os diversos trabalhos neste sentido não resultaram satisfatórios.

Os métodos empregados são muitos, podendo ser divididos em três grupos, como faz DADDI (7)

1.°, métodos baseados no poder tóxico;
2.°, métodos baseados em reações imunitárias e
3.°, métodos baseados no poder cuti-reacional.

Dos métodos do primeiro grupo temos, principalmente, o processo usado por KOCH e aperfeiçoado por Otto (23) em 1906, que consiste em infetar um lote grande de cobaios de 350 a 400 g de pêso, pela inoculação de 0,5 miligrama de cultura, em caldo glicerinado de 2 a 3 semanas, de uma amostra virulenta. Ao fim de 20 dias sacrificam-se alguns animais para nos assegurarmos da infecção, o que se repete ainda uma semana depois. Sendo afirmativo o estado infeccioso dos cobaios, injetam-se doses de 0,05 a 0,3 cc. de tuberculina por via subcutânea. A menor quantidade que matar o cobaio em 24 horas é o título da tuberculina.

Outro método dêste grupo é a "Spermatocyt-tuberculin-reaction" de LONG (19), proposto em 1925. Baseia-se no fato do tecido testicular ser muito sensível à tuberculina, apresentando necrose mesmo com pequenas doses. Consiste em injetar doses variáveis de tuberculina, de mais ou menos 0,01 a 0,00001, no testículo de cobaios de 400 g de pêso, preliminarmente infetados por inoculação de cultura de bacilos, de modo a obter um nódulo caseoso na região linfática correspondente (no fim de um mês aproximadamente). Os resultados podem ser interpretados numa fase precoce ou tardia. A fase tardia, no fim de 3 a 4 semanas, dá resultados muito seguros pelo exame histológico. A menor quantidade capaz de inibir a espermatogênese corresponde a 1 unidade. Segundo LONG êste método dá resultados constantes e é muito sensível, porém tem o inconveniente de ser de técnica delicada e muito demorado.

Outro método enquadrado neste grupo foi descrito por LINGELSHEIM (18) e por BORREL (2) consistindo em inoculações intracerebrais em cobaios sãos e infetados. Devido a causas de êrro inerentes ao próprio produto, como a glicerina, a peptona, etc., não tem especificidade, sendo logo abandonado.

Dos métodos baseados em reações imunitárias temos a considerar: o método da fixação do complemento, estandardizado por WATSON e HEATH (28) e o método de precipitação de DREYER e VOLUM (10).

O primeiro foi proposto em 1924, sendo feito usando-se sôro de cavalo ou boi infetado experimentalmente por inoculação intravenosa de bacilos de KOCH. A técnica consiste em diluir a tuberculina a 1/20 e usar doses de 0,1 a

1,3 cc., praticando-se a reação de fixação de acôrdo com a técnica estabelecida por BORDET. Baseando-se na quantidade de tuberculina que fixa o complemento em presença do anticorpo (sôro de boi ou cavalo) estabelece-se o número de unidades por centímetro cúbico em comparação com uma tuberculina padrão.

O outro método de precipitação ou fluculação, publicado em 1924, consiste em pôr em contato diluições de tuberculina com sôro precipitante obtido em cavalos por inoculação de bacilos desengordurados. Os resultados obtidos, em comparação com uma tuberculina padrão, são expressos em unidades.

Os métodos cuti-reacionais baseiam-se na prática de reações, tanto pela técnica de VON PIRQUET como pela de MANTOUX, em animais tuberculizados ou no homem, em comparação com tuberculinas de atividade comprovada. Os trabalhos de MANTOUX e MOUSSE, RÖMER, LOEWENSTEIN e outros (29) convergem para o emprêgo de cobaios tuberculosos, como os usados no método de OTTO. Nestes animais fazem-se intradermo ou cuti-reações com a tuberculina em prova e a padrão e apreciam-se os resultados. CALMETTE e DE POTTER (5), no trabalho sôbre padronização de tuberculinas de 1926, indicam preferir a comparação num mesmo cobaio para evitar as variações reacionais verificadas nos vários animais. Os bovídeos também têm sido empregados por DOUGLAS, BUXTON e DUNKIN (29), principalmente com tuberculina para uso veterinário.

Como vemos, pela variedade de técnicas, todos os métodos de verificação de atividade de uma tuberculina apresentam suas falhas, ficando seu emprêgo dependente da preferência de cada um. A impressão que temos é que esta verificação depende da aplicação a que se destina a tuberculina. No nosso caso, em que preparamos tuberculina para provas cutâneas e uso humano exclusivo, achamos preferível fazer a comparação no próprio homem. Naturalmente os animais também se apresentam alérgicos, mas há sempre dúvida se no homem determinada tuberculina reage de maneira diferente, em vista de ter sido verificado que, comparando tuberculinas no boi e no homem infetados, as reações apresentam algumas vêzes grandes diferenças (5).

Também um ponto de interêsse é que o poder tóxico e o cuti-reacional não estão sempre na mesma relação, o que já foi anotado por LACORTE (17) e outros. Muitas partidas mostram pouco poder tóxico e, no entanto, dão cuti-reações típicas.

Para o caso de tuberculina para fins terapêuticos, além do poder cuti-reacional, parece-nos necessário também a verificação do poder tóxico, que deve ser feito de preferência segundo as normas de OTTO.

Com relação aos metodos imunitários, CALMETTE (4) e outros opõem sérias objeções, pois o poder antigênico *in vitro* em geral não está em relação com o poder cuti-reacional, como também não exprime o poder tóxico.

Tendo em vista estas considerações e sendo nossa tuberculina exclusivamente para provas alérgicas, adotamos verificar a atividade das diversas partidas em comparação com uma tuberculina padrão no próprio homem, usando um grupo de 15 a 20 indivíduos adultos, pelo método de VON PIRQUET. Assim, com um grupo de indivíduos, tomados indistintamente, temos a vantagem de ter tôdas as gradações nas reações e verificar como a amostra em exame reage tanto nos indivíduos pouco alergizados como nos intensamente sensíveis.

Os resultados têm sido satisfatórios e aconselhamos esta prática pressupondo possuirmos uma boa tuberculina padrão.

RESUMO

O A. faz considerações sôbre a técnica de preparação da tuberculina e relata o método que usa no Instituto Oswaldo Cruz. Êste método consiste no emprêgo de amostras de bacilo de KOCH do típo humano (RATTI) e do típo bovino (VALLÉE) cultivadas em meio de DORSET, com pequenas modificações. Êste meio foi o que mostrou melhores resultados em comparação com outros experimentados. Com relação à verificação da atividade, examina os diversos métodos empregados e mostra preferir o método comparativo com uma tuberculina padrão, pela reação de VON PIRQUET, num grupo de indivíduos adultos, tomados indistintamente.

NOTICE ON TUBERCULINS

Summary

The A. makes considerations on the technique of preparing tuberculins and reports the method which he uses at the Instituto Oswaldo Cruz. This method consists in the use of Koch's bacillus strains both of human (Ratti) and bovine type (Vallée) cultivated on Dorset's medium slightly modified. This medium was that which afforded better results as compared with others experimented by the A. As to the verification of the tuberculin activity, the A. examines the various methods employed and gives the preference to the method of comparison with a standard tuberculin, by means of Von Pirquet's reaction, in a group of adult individuals, taken indiscriminately.

BIBLIOGRAFIA

1) ARMAND-DELILLE, P., MAYER, A., SCHAEFFER, G. & TERROINE, E.

1912. Culture du bacille de Koch en milieux chimiquement defini. C. R. Ac. Sc. Vol. 154, pgs. 537-539.

2) BORRELL, A.

1904. Bacilles tuberculeux et para-tuberculeux. Bull. Inst. Pasteus. T. 2, pgs. 409-421.

3) BRAGA, A.

1941. Soros, vacinas, alergenos e imunigeos. Rio de Janeiro, 3.º vol., pgs. 83-115.

4) CALMETTE, A.

1936. L'infection bacillaire et la tuberculose. Masson et Cie. Paris. 4.º ed.

5) CALMETTE, A. & DE POTTER

1926. Sur le titrage des tuberculines. Société des Nations. Genève.

6) CALMETTE, A., MASSOL, L. & BRETON, M.

1909. Milieux de culture pour le bacille tuberculeux. C. R. Soc. Biol. Vol. 67, pgs. 580-582.

7) DADDI, G.

1938. Il bacillo di Koch. Licinio Capelli, Edit. Bolonha. Itália.

8) DE POTTER, F.

1927. Sur les proprietés antigènes et reationelles des tuberculines. Arch. Intern. Pharm. & Therap. Vol. 33, pgs. 115-185.

9) DORSET, M.

1934. A comparison of Koch's old tuberculin with a now synthetic-medium tuberculin. J. A. Veter. Med. Ass. Vol. 84, pgs. 439-456.

10) DREYER, G. & VOLLUM, R. L.

1924. A precipitation method for the standardization of "old" tuberculin. Lancet, Vol. 2, pgs. 1003-1007.

11) GERSHENFELD, L.

1939. Biological products. Romaine Pierson Publishers. New York, pgs. 177-188.

12) HENLEY, R. R.

1925. The influence of iron on the growth of the tubercle bacillus upon glicerinated beef broth. Am. Rev. Tuberc. Vol. 12, pgs. 246-259.

13) Henley, R. R.

1926. Dextrose in synthetic media for the tubercle bacilli.
Am. Rev. Tuberc. Vol. 13, pas. 393-397.

14) Koch, R.

1890. Weitere Mittheilungen Über ein Heilmittel gegen Tuberculose.
Berl. Klin. Woch. Vol. 27, pgs. 1077-1080.

15) Koch, R.

1891. Fortsetzung der Mittheilungen Über ein Heilmittel gegen Tuberculose.
Deut. Med. Woch. Vol. 17, pgs. 101-102.

16) Koch, R.

1891. Weitere Mittheilung Über das Tuberkulin.
Deut. Med. Woch. Vol. 17, pgs. 1189-1192.

17) Lacorte, J. G.

1944. Temas de Imunologia.
Livr. Odeon Edit. Rio de Janeiro, pgs. 57-60.

18) Lingelsheim

1898. Ueber die Werth bestimmung der Tuberkulose giftpräparate.
Deut. Med. Woch. Vol. 24, pgs. 583-585.

19) Long, E. R.

1925. Standardization of tuberculin: assay on basis of spermatocyte reaction.
J. Inf. Dis. Vol. 37, pgs. 368.

20) Long, E. R. & Seibert, F. B.

1926. A non protein medium suitable for the production of tuberculins in large quantity.
Am. Rev. Tuberc. Vol. 13, pgs. 393-397.

21) Long, E. R. & Seibert, F. B.

1926. The chemical composition of the active principle of tuberculin.
Am. Rev. Tuberc. Vol. 13, pgs. 393-493.

22) Mantoux, Ch.

1908. Intradermo-réaction de la tuberculine.
C. R. Ac. Sc. Vol. 174, pgs. 355-357.

23) Otto, R.

1906. Die Staatliche Prüfung der Heilsera.
Arbeiten aus dem Königlichen Institut für Expermentelle Therapic zu Frankfurt A. M. N.° 2, pgs. 75-79.

24) Sauton, M. B.

1912. Sur la nutrition minerale du bacille tuberculeux.
C. R. Ac. Sc. Vol. 155, pgs. 860-861.

25) Seibert, F. B., Aronson, J. D., Reichel, J., Clark, L. T. & Long, E. R.

1934. Purified protein derivative. A standardized tuberculin for uniformity in diagnosis and epidemiology.
Am. Rev. Tuberc. Vol. 30, pgs. 705-768.

26) Sutherland, H.

1936. The tuberculin handbook.
Oxford University Press. London.

27) Von Pirquet,

1907. Ueber Tuberculininpfung.
Deut. Med. Woch. Vol. 33, pg. 865.

28) Watson, E. A, & Heath, L. M.

1924. Studies of biological preparation by complement-fixation methods. II Tuberculin: a new method of standardization.
J. Am. Veter. Med. Ass. Vol. 66, pgs. 24-35.

29) Ad. Calmette, A. & De Potter.

Uma nova espécie de Aedes, transmissora de Plasmodium gallinaceum (Diptera Culicidae) (*)

por

N. L. Cerqueira

Laboratório do Serviço de Etudos e Pesquisas sôbre a Febre Amarela

e

W. Lobato Paraense

Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz

(Com quatro figuras no texto)

Durante o período das experiências de transmissão do *Plasmodium gallinaceum* BRUMPT, 1935, com mosquitos, realizadas por um de nós (WLP) em Belo Horizonte, Minas Gerais, tivemos ensejo de receber do Serviço Nacional de Febre Amarela, graças ao espírito de colaboração do seu diretor naquela Região, um grande número de focos larvários, dentre êles muitos colhidos em cavidade de pedra naquela cidade, nos quais, evoluídos até imagos, foi observada uma espécie de mosquito que, a par de mostrar-se eficiente transmissor daquele *Plasmodium*, apresentava características estranhas ao nosso conhecimento.

Estudando agora êste mosquito, acreditamos ser uma nova espécie de *Aëdes* (*Ochlerotatus*), da qual apresentamos descrição da fêmea e do macho.

O resultado das provas de transmissão obtidas com a fêmea desta espécie será conhecido em outro trabalho a ser publicado.

Revendo a coleção do Laboratório do Serviço de Estudos e Pesquisas sôbre a Febre Amarela, no decorrer do estudo da espécie em questão, encontramos a genitália de um macho e algumas fêmeas evoluídas de larvas colhidas em cavidade de pedra no município de Santana do Ipanema, Alagoas, em novembro de 1934.

(*) Os estudos e observações em que se baseia êste artigo foram realizados com o apoio e sob os auspícios do Serviço de Estudos e Pesquisas sôbre a Febre Amarela, do Ministério da Educação e Saúde, do Brasil, em cooperação com a Divisão Sanitária Internacional da Fundação Rockefeller, e da Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, do mesmo Ministério.

* Recebido para publicação a 29 de agôsto de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Esta genitália e as fêmeas, que são idênticas ao material de Belo Horizonte, foram determinadas em dezembro daquele ano como sendo de *Aëdes* (*Taeniorhynchus* ?) *sp.*

Embora o material que descrevemos aqui tenha sido evoluído de larvas, não aproveitamos, infelizmente, na ocasião, nenhuma pele de larva. Quanto ao material de Santana do Ipanema, foram recebidos apenas os adultos com as indicações de terem sido evoluídos de larvas.

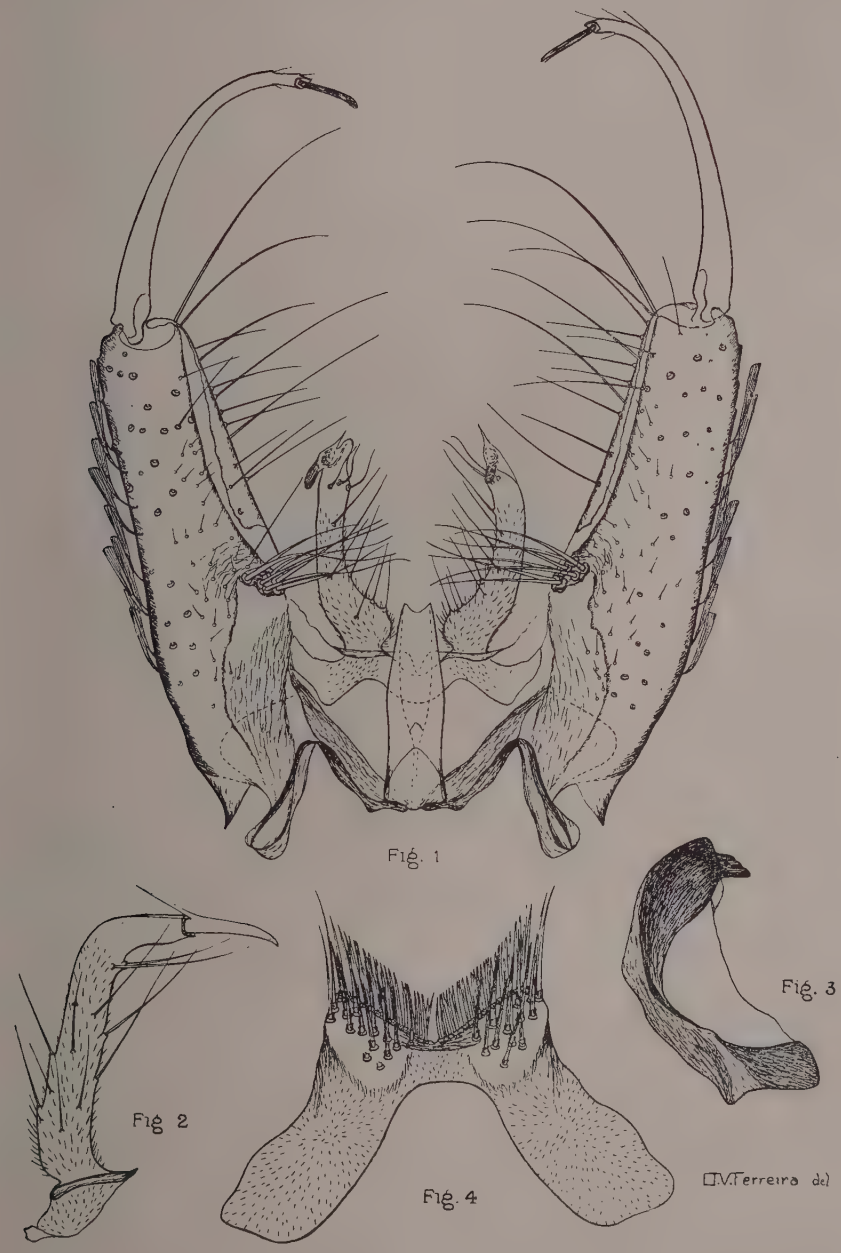
Aëdes (Ochlerotatus) lepidus n. sp.

Fêmea: — Cabeça. Probóscida longa e delgada, uniformemente escura. Palpo. Um sétimo do comprimento da probóscida, de côr igual a esta, exceto o ápice do último artículo que tem um grupo de escamas brancas. Clípeo, toro e antena enegrecidos. Occipício enegrecido, com escamas brancas eriçadas, estreitas, curvas no centro e pequena mancha de escamas da mesma côr nos lados, onde são mais largas, deitadas e se dirigem para a margem dos olhos confluindo-se no vértice; entre as escamas brancas do centro e as dos lados, existem outras pretas, eretas e forqueadas, que também se encontram na região da nuca; margem dos olhos com muitas cerdas pretas.

Tórax. Lobo pronotal enegrecido com escamas brancas, ovais, algumas cerdas brancas e muitas pretas na margem anterior. Mesonoto enegrecido, revestido de escamas castanho-escuro e pequenas manchas de escamas brancas assim distribuidas: uma mediana que começa na margem anterior e às vêzes se estende até o têrço anterior do mesonoto; ao lado desta outra em semi-círculo sôbre o pronoto posterior; uma submediana na extremidade da sutura mesonotal; uma sôbre a raiz das asas e três menores ainda no espaço antescutelar; além destas manchas existem algumas escamas espalhadas sobre o mesonoto; muitas cerdas pretas longas dos lados do espaço antescutelar e sôbre a raiz das asas. Escutelo com mancha de escamas brancas nos lobos e cerdas pretas longas. Pleuras e coxas com manchas de escamas brancas.

Abdome enegrecido brilhante, revestido de escamas negras e faixas basais de escamas brancas, no dorso e no ventre, indo do segundo ao sétimo segmento; primeiro tergito com algumas escamas e cerdas, no centro e nos lados, de côr pardacenta, maiores e mais numerosas do que as marginais dos outros tergitos.

Patas pretas de reflexos bronzeados; fêmures anteriores e medianos com estria de escamas pardacentas na face inferior; o posterior branco no têrço basal em baixo e nos lados; ápices dos fêmures e tíbias com anel de escamas brancas; tarsos escuros. Garras tarsais anteriores e medianas denteadas, as posteriores simples.



AEDES (OCHLEROTATUS) LEPIDUS N. SP

Fig. 1 — Genitália do macho. (Vista ventral). Fig. 2 — Pinceta. (Vista lateral). Fig. 3 — Décimo esternito. (Vista lateral). Fig. 4 — Nono tergito (Vista externa

Asa pouco mais longa do que o abdome e com escamas escuras.

Macho: — Colorido igual ao da fêmea. Palpo dois terços do comprimento da probóscida, os dois últimos artículos de comprimento igual, pouco cerdosos e com faixa branca estreita nas articulações. Antena pouco mais da metade do comprimento da probóscida e muito plumosa.

Garras tarsais anteriores e medianas, longas e denteadas; as posteriores pequenas e simples.

Genitália. Peça lateral (Fig. 1) longa, quase cilíndrica, cerdosa e com escamas no rebordo externo; lobo basal não muito saliente, com três a quatro cerdas grossas e outras tantas mais finas, mais ou menos longas. Pinça adelgaçada para os três quartos distais, encurvada e com cêrca de dois terços do comprimento da peça lateral; ápice, com três ou quatro minúsculas cerdas; espinho terminal aproximadamente um sexto do comprimento da pinça, um tanto forte e escavado na extremidade. Pinceta (Fig. 2) com pedúnculo moderadamente longo, bastante robusto, arqueado, curvado para o lado ventral perto do têrço distal, pubescente até aí e com cêrca de dez cerdas longas, duas das quais estão implantadas em tubérculos mais salientes junto da curvatura no lado interno; filamento apical articulado, pequeno, com a extremidade anterior tubular de ponta adunca, a parte posterior laminada, muito estreita, mais curta e com a forma de farpa de arpão. Décimo esternito (Fig. 3) baixo, muito longo e fortemente esclerotizado no ápice, com um forte dente terminal; êste dente mostra às vêzes vestígio de duas outras subdivisões. Nono tergito (Fig. 4) grande, com dupla fileira cerrada de cerdas e um grupo de doze a quatorze cerdas em cada lobo. Mesossomo comprido e estreitado para o ápice, abertura basal anterior triangular.

Larva e pupa: desconhecidas.

Tipos: — Holótipo macho, alótipo fêmea, parátipos dois machos e quatorze fêmeas, a serem depositados no Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro e na coleção do Laboratório do Serviço de Estudos e Pesquisas sôbre a Febre Amarela.

Localidade-tipo: — Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, novembro de 1943.

Localidade adicional: — Santana do Ipanema, Estado de Alagoas, novembro de 1934.

Discussão: *Aëdes* (*Ochlerotatus*) *lepidús* é espécie próxima de *Aëdes* (*Ochlerotatus*) *jacobinae*, SERAFIM & DAVIS, 1933, (*) dela porém se dife-

(*) Julgamos que *A. jacobinae* pode ser colocado no subgênero *Ochlerotatus* em vista das suas características coincidirem com as assinaladas para êste subgênero por EDWARDS, 1932.

rencia na fêmea, por apresentar escamas brancas no ápice do último artículo do palpo; pelas manchas de escamas brancas no mesonoto mais distintas e pelos anéis brancos nos ápices dos fêmures e tíbias, cujas características são ausentes em *A. jacobinae*. No macho, além dêstes, apresenta ainda anel branco basal nas três últimas articulações do palpo e os dois últimos artículos são quase destituídos de cerdas.

Quanto à genitália masculina as diferenças são mais sensíveis no seu todo, podendo ainda em particular observar-se que o pedúnculo da pinceta é muito robusto, possuindo de 10 a 12 cerdas longas, o filamento pequeno, com a parte anterior tubular de ponta adunca e a posterior menor e muito estreita, lembrando a farpa de arpão; o décimo esternito é moderadamente pequeno, largo no ápice e o dente terminal com vestígio de duas ou três subdivisões; o nono tergito muito característico, sem intervalo mediano e densamente cerdoso na margem e nos lobos.

Enquanto que em *A. jacobinae* estas três peças apresentam-se com as seguintes características: Pedúnculo da pinceta delgado com uma cerda no têrço distal, o filamento terminal foliáceo maior e a parte posterior muito mais curta e mais larga do que a do filamento em *A. lepidus;* o décimo esternito estreitado para o ápice com vestígio de dois dentes terminais; o nono tergito com grande intervalo mediano e cada lobo com sete cerdas.

AGRADECIMENTO

Somos gratos ao Dr. O. Pinto Severo, diretor da Região Centro do Serviço Nacional de Febre Amarela, que gentilmente ofereceu o material para os nossos estudos.

BIBLIOGRAFIA

Edwards, F. W.

1932. *Genera Insectorum*. Fam. *Culicidae*, fasc. 194, 130-131 e 135-136.

Serafim J. Jr. & Davis, N. C.

1933. Distribution of *Aëdes* (*Taeniorhynchus*) *taeniorhynchus* (Wiedemann). *Aëdes* (*Taeniorhynchus*) *jacobinae*, new species. An. Ent. Soc. of Amer. Vol. 26, 13-19.

Estudo sôbre flebotomus no vale Amazônico
Parte II. Descrição de F. Dunhami, F. Melloi e F. Wagleyi
(Diptera, Psychodidae) (*)

por

O. R. Causey e R. G. Damasceno

(Com 22 figuras intercaladas no texto)

Os estudos e observações em que baseia esta publicação foram executados com o apoio e sob os auspícios do Serviço Especial de Saúde Pública, mantido pelo Ministério da Educação e Saúde do Brasil e pelo Coordenador dos Assuntos Inter-Americanos.

Estudos levados a efeito para determinar a distribuição dos *Flebotomus* no Vale Amazônico revelaram a existência de 23 espécies novas nas áreas investigadas. Quatro destas já foram descritas em uma publicação prévia de Damasceno e Causey (no prelo). A finalidade do presente trabalho é descrever três espécies adicionais.

Flebotomus dunhami n. sp.

TIPOS. Holotipo capturado em isca cavalo, no Município de Tefé e um paratipo capturado em tronco de árvore, em Coimbra, no Município de Benjamin Constant, Rio Solimões, Estado do Amazonas. O holotipo será depositado no National Museum, Washington, D. C., e um paratipo no Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. A nova espécie é descrita em homenagem ao Gal. George Dunham do Exército dos Estados Unidos da América e Assistente do Coordenador de Assuntos Inter-Americanos.

DESCRIÇÃO

Tamanho cêrca de 3 mm. e côr geral castanho-clara.

CABEÇA medindo 390μ de largura por 345μ de comprimento. *Clipeo* pequeno, com 105μ, sendo 3.2 a relação entre o comprimento total da cabeça e o do clipeo. *Palpos* (Estampa I, fig. 4) com 555μ de comprimento total, medindo os diversos artículos:

I — 30μ
II — 120μ
III — 150μ
IV — 75μ
V — 180μ

Índice palpal:

I. IV. II. III. V.

Antenas com os diversos artículos medindo:

III — 255μ
IV — 135μ
V — 135μ
VI — 135μ
VII — 135μ
VIII — 135μ
IX — 120μ
X — 120μ
XI — 120μ
XII — 120μ
XIII — 150μ
XIV — 90μ
XV — 75μ
XVI — 60μ

TÓRAX. Mesonoto, escutelo, balancins, pleuras e coxas com coloração castanho-clara. *Asas* (Estampa I, fig. 7) com 2040γ de comprimento por 56μ em sua maior largura, medindo as diversas partes:

$\alpha = 525\mu$

$\beta = 420\mu$

$\delta = 315\mu$

$\gamma = 245\mu$

Índice alar:

$$\frac{\alpha}{\beta} = 1.2$$

$$\frac{\alpha}{\gamma} = 2.1$$

$$\frac{\alpha}{\delta} = 1.6$$

$$\frac{\text{Comprimento}}{\text{Largura}} = 3.6$$

Pernas com os diversos artículos medindo:

Anteriores		*Medianas*		*Posteriores*
Fêmur	840μ	Fêmur	805μ	Faltam no exemplar
Tíbia	980μ	Tíbia	1260μ	
1.° Tarso	595μ	1.° Tarso	700μ	
2.° Tarso	245μ	2.° Tarso	280μ	
3.° Tarso	175μ	3.° Tarso	175μ	
4.° Tarso	140μ	4.° Tarso	140μ	
5.° Tarso	105μ	5.° Tarso	105μ	

ABDOME de coloração idêntica à do tórax.

GENITALIA (Estampa I, fig. 1, e Estampa IV, fig. 20). *Gonapófise superior* com segmento basal de 412μ de comprimento por 117μ de largura na base, mais ou menos uniforme até o têrço distal que sofre um brusco estreitamento à custa do bordo inferior. Na face interna existem três espinhos fortes, pouco mais curtos que a largura do segmento, implantados dois próximos à base e um isolado, no meio do segmento. Cerdas longas intercalando areas nuas revestem o segmento, principalmente na metade distal. Segmento distal (Estampa I, fig. 2) com 228μ de comprimento por 60μ de maior largura; apresenta quatro espinhos relativamente longos e fortes. Dêstes espinhos dois são apicais, implantados em tubérculos salientes, um no têrço distal e um no têrço basal, sendo êstes dois mais finos do que os apicais. Gonapófise mediana (Estampa I, fig. 6) com 252μ de comprimento por 90μ de largura na base, permanece mais ou menos uniforme até a metade distal, terminando em lâmina longa, achatada lateralmente e com curvatura brusca para cima. Cerdas curtas e fortes intercalando areas nuas revestem tôda a extremidade recurvada, cujo ápice se apresenta truncado horizontalmente. Na face superior da gonapófise existe um apêndice cilíndrico, com extremidade romba, revestida de cerdas espinhosas inseridas em tubérculos nítidos e dirigidas para o ápice da gonapófise. Proximo à base dêste apêndice fica implantada uma cerda idêntica às já referidas. *Gonapófise inferior* pouco mais longa do que o segmento basal da gonapófise superior, mede 440μ de comprimento por 45μ de largura e é revestida de cerdas longas. *Membranelas* curtas e estreitas. *Aparelho espicular* com gubernáculo triangular; pompeta (Estampa I, fig. 5) com 195μ de comprimento; espiráculo muito mais longo, cêrca de quatro vêzes maior que a pompeta e com a extremidade espatulada.

DISCUSSÃO TAXONÔMICA

Esta espécie é mais próxima de *F. brachipygus,* Mangabeira, 1942 e *F. longispinus* Mangabeira, 1942. *Flebotomus dunhami* diferencia-se fàcilmente de *F. brachypigus* por ter apenas duas cerdas expinhosas subbasais e uma me-

diana no segmento basal da gonapófise superior, enquanto *F. brachipygus* tem seis, implantadas no meio do segmento, além de outras mais finas e próximas a estas. Segmento distal da gonapófise superior também difere nas duas espécies porque *dunhami* tem dois espinhos terminais, um no têrço distal e um no têrço basal, enquanto *brachipygus* tem um terminal, um próximo ao ápice, um no têrço distal e um no têrço basal. A gonapófise mediana destas duas espécies também difere. Em *F. brachipygus* a gonapófise estreita-se fortemente a partir da metade distal, recurvando-se para cima próximo à extremidade, que termina em ponta mais ou menos afilada, dirigida para a base da gonapófise; o apêndice existente na região próxima é curto, com morfologia diferente da da nova espécie e apresenta-se revestido de cerdas longas, sendo duas delas mais fortes é implantadas em tubérculo nítido. A gonapófise inferior em *F. brachipygus* é muito mais longa que o segmento basal da superior e é revestida de cerdas curtas e fortes.

Em *F. longispinus* os caracteres morfológicos da gonapófise superior são completamente diferente dos da nova espécie mas a gonapófise mediana é um tanto parecida. Em *F. longispinus* a extremidade da gonapófise mediana (Estampa I, fig. 3) é achatada lateralmente em lâmina, ligeiramente curvada para cima e de ponta romba, enquanto que na nova espécie esta lâmina sofre uma curvatura acentuada, é mais longa e apresenta o ápice truncado horizontalmente. O apêndice mediano em *F. longispinus* (Estampa I, fig. 3) apresenta uma formação de aspecto bulboso na margem superior e afila posteriormente em ponta fina.

Flebotomus melloi n. sp.

TIPOS. Holotipo macho e quatro paratipos capturados em toca de paca nas matas do Município de Coarí, Rio Solimões, Estado do Amazonas. O holotipo será depositado no National Museum, Washington, D. C., e um paratipo no Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Espécie dedicada ao Dr. Gervásio de Brito Melo, Belém, Brasil.

DESCRIÇÃO

Tamanho cêrca de 2.5 mm. e coloração geral castanho-escura.

CABEÇA com 297μ de comprimento por 306μ de largura. *Clipeo* longo com 108μ de comprimento, sendo 2.8 a relação entre o comprimento total da cabeça e o do clipeo. *Palpos* (Estampa II, fig. 12) com 414μ de comprimento total, medindo os diversos artículos:

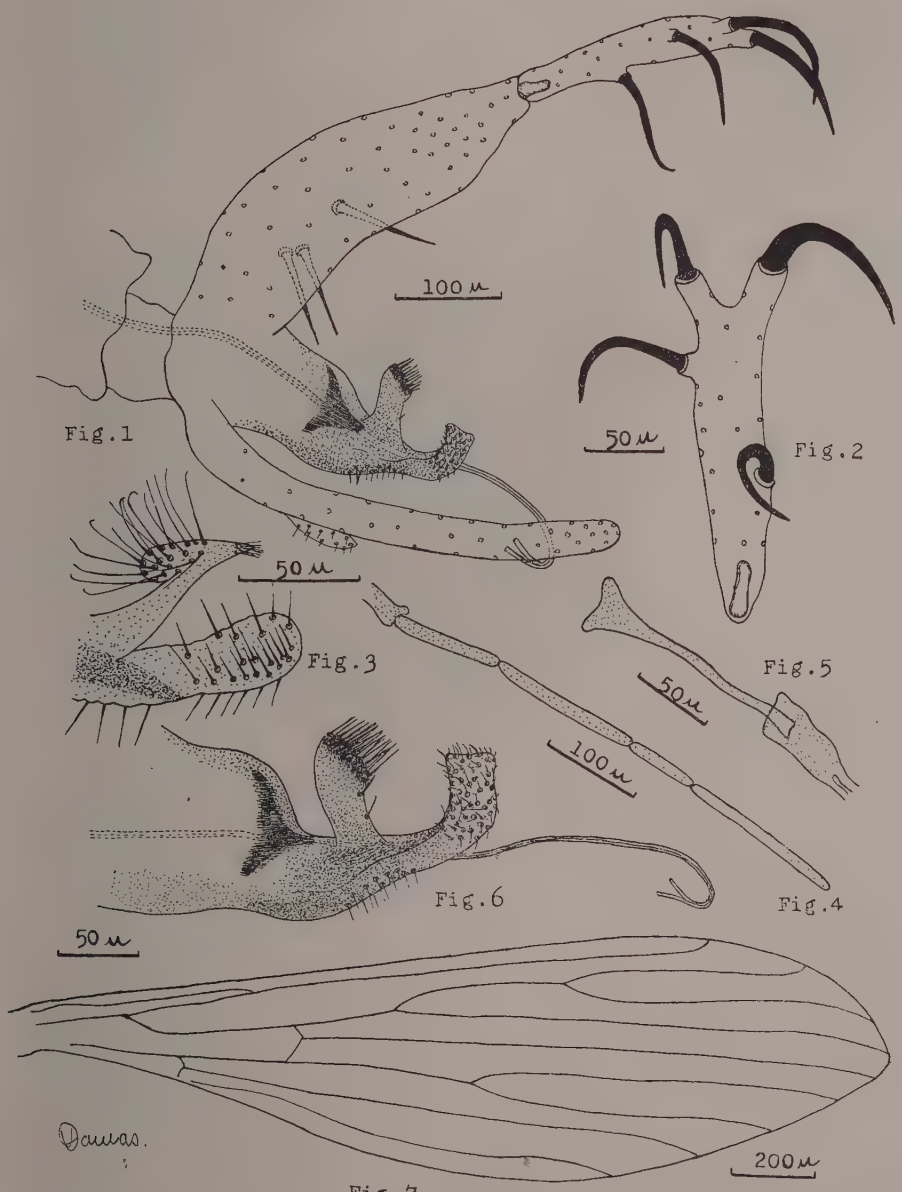


Fig.7

Fig. 1 — Genitalia do macho. Fig. 2 — Segmento distal da gonapófise superior. Fig. 3 — Gonapófise mediana de *F. longispinus*. Fig. 4 — Palpos. Fig. 5 — Pompeta. Fig. 6 — Gonapófise mediana. Fig. 7 — Asa

I — 27μ
II — 90μ
III — 117μ
IV — 54μ
V — 126μ

Índice palpal:

I. IV. II. III. V.

Antenas com os diversos artículos medindo:

III — 345μ
IV — 195μ
V — 195μ
VI — 195μ
VII — 195μ
VIII — 195μ
IX — 180μ
X — 165μ
XI — 165μ
XII — 165μ
XIII — 150μ
XIV — 135μ
XV — 120μ
XVI — 75μ

TORAX com mesonoto e escutelo castanho-escuro, pleuras e pernas também castanhas, porém mais claras. *Asas* (Estampa II, fig. 13) longas e estreitas com 1940μ de comprimento por 490μ de largura, medindo suas diversas partes:

α = 560μ
β = 245μ
δ = 385μ
γ = 245μ

Índice alar:

$$\frac{\alpha}{\beta} = 2.3$$

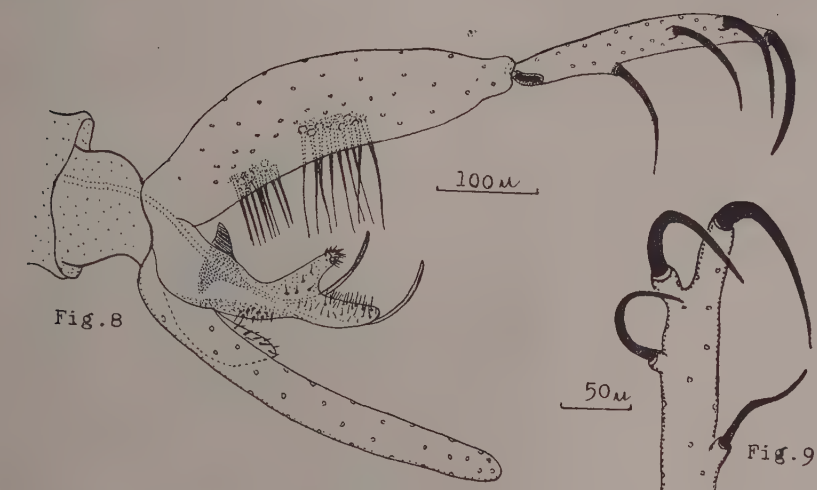
$$\frac{\alpha}{\gamma} = 2.3$$

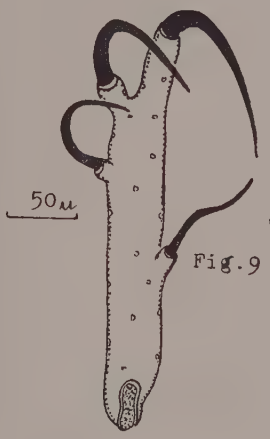
$$\frac{\alpha}{\delta} = 1.5$$

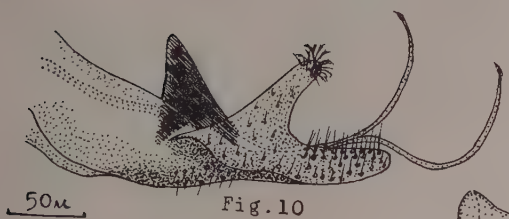
$$\frac{\text{Comprimento}}{\text{Largura}} = 4.0$$

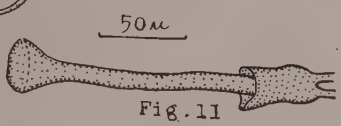
Pernas com os diversos artículos medindo:

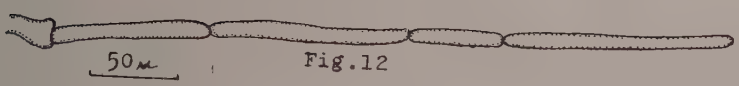
Anteriores	*Medianas*	*Posteriores*
Fêmur 805μ	Fêmur 770μ	Fêmur 875μ
Tíbia 1015μ	Tíbia 1295μ	Tíbia 1545μ
1.° Tarso 595μ	1.° Tarso 735μ	1.° Tarso 840μ
2.° Tarso 280μ	2.° Tarso 630μ	2.° Tarso 315μ
3.° Tarso 175μ	3.° Tarso 175μ	3.° Tarso 175μ
4.° Tarso 140μ	4.° Tarso 140μ	4.° Tarso 140μ
5.° Tarso 105μ	5.° Tarso 105μ	5.° Tarso 105μ











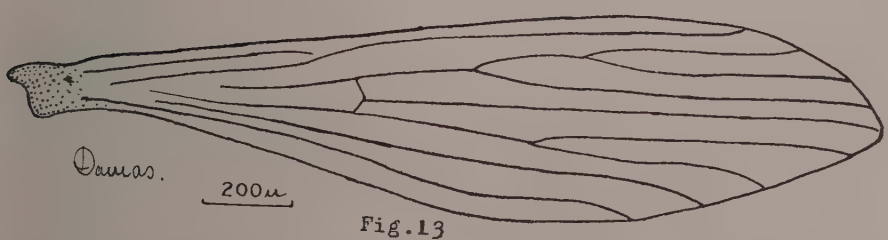


Fig. 8 — Genitalia do macho. Fig. 9 — Segmento distal da gonapófise superior. Fig 10 — Gonapófise mediana. Fig. 11 — Pompeta. Fig. 12 — Palpos. Fig. 13 — Asa

ABDOME castanho-claro:

GENITALIA (Estampa II, fig. 8, e Estampa IV, fig. 21). Gonapófise superior com segmento basal de 390μ de comprimento por 135μ na sua maior largura, apresenta na face interna dois agrupamentos de cerdas espinhosas, um basal e outro mediano, sendo que as cerdas que compõem o grupo mediano são mais longas e fortes. O bordo externo da face inferior é revestido por cerdas longas implantadas em tubérculos nítidos, dispostas em fileiras, da base ao ápice. O segmento distal (Estampa II, fig. 9) mede 255μ de comprimento por 95μ na sua maior largura, e apresenta quatro espinhos: um terminal, um subterminal implantado em tubérculo saliente, um logo adiante do meio e outro um pouco aquém do meio. A *gonapófise mediana* (Estampa II, fig. 10) com 220μ de largura na base, permanece mais ou menos uniforme até o meio, bifurcando-se depois; apresenta o ramo superior mais curto e delgado que o inferior, terminando em ponta romba, que é revestida de cerdas curtas e recurvadas para baixo. O ramo inferior em forma de lâmina tem quase a mesma largura da base ao ápice e é revestido de cerdas esparsas que se tornam mais abundantes e longas na face superior. *Membranelas* curtas e estreitas. *Aparelho espicular* com gubernáculo triangular de base larga, pompeta (Estampa II, fig. 11) com 180μ de comprimento, espículo longo e forte, com cêrca de 5 vêzes o comprimento da pompeta, terminando em extremidade larga e recurvada.

DISCUSSÃO TAXONÔMICA

Flebotomus brachiphallus e *Flebotomus infraspinosus* Mangabeira 1941, as únicas espécies descritas que apresentam a gonapófise mediana bifurcada, fàcilmente afastam-se da nova espécie por apresentarem o segmento basal da gonapófise superior com cerdas longas e finas, implantadas em uma crista única, enquanto que em *F. melloi* estas cerdas são espinhosas e distribuídas em dois grupos, um basal e outro mediano, inseridas diretamente sôbre a gonapófise. No segmento distal, além dos quatro espinhos, existe uma cerda fina implantada próxima ao espinho terminal e que é ausente em *F. melloi*.

O ramo superior da gonapófise mediana é mais curto em *F. melloi* do que nas duas espécies afins *F. brachiphallus* e *F. infraspinosus*. Também em *F. melloi* a gonapófise inferior é inerme e revestida de cerdas normais, enquanto no *F. brachiphallus* e *F. infraspinosus* tal gonapófise se apresenta com extremidade afilada, terminando por um dente curto e forte, próximo do qual estão inseridas cerdas longas, grossas e de extremidade espatulada.

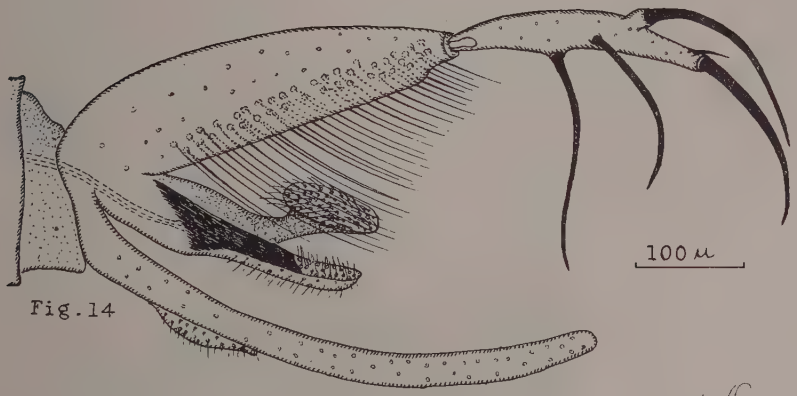


Fig. 14

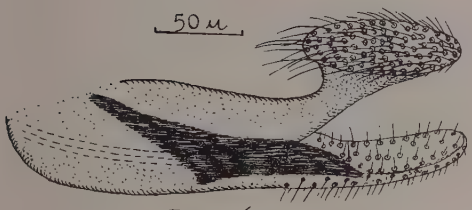


Fig. 16

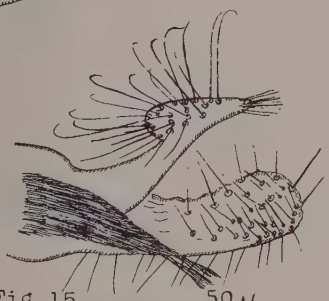


Fig. 15

Fig. 17

Fig. 18

Fig. 19

Fig. 14 — Genitalia do macho. Fig. 15 — Gonapófise mediana de *F. longipalpis*. Fig. 16 — Gonapófise mediana. Fig. 17 — Pompeta. Fg. 18 — Palpos. Fig. 19 — Asa

Flebotomus wagleyi n. sp.

TIPOS. Holotipo macho e sete paratipos capturados em toca de Dasipodídeo, na mata da Catinga, no Município de São Paulo de Olivença, Rio Solimões, Estado do Amazonas. O holotipo será depositado no National Museum, Washington, D.C., e um paratipo no Instituto Oswaldo Cruz, Rio de de Janeiro. A nova espécie é descrita em homenagem ao Dr. Charles Wagley, Assistente do Superintendente do Serviço Especial de Saúde Pública, Rio de Janeiro.

DESCRIÇÃO

Tamanho cêrca de 2.5 mm. de comprimento e côr geral castanho-clara.

CABEÇA mais larga do que longa com 279μ de comprimento por 315μ de largura, sendo 2.4 a relação entre o comprimento total da cabeça e o do clipeo. *Palpos* (Estampa III, fig. 18) com 665μ de comprimento total, medindo os diversos artículos:

I — 35μ	*Índice palpal*:
II — 112μ	I. IV. II. III. V.
III — 140μ	V>I+II+IV
IV — 98μ	V>II+III
V — 280μ	V>III+IV
	V>I+III+IV
	V>II+III+IV.

Antenas, medindo os diversos artículos:

IIII — 261μ	X — 126μ
IV — 144μ	XI — 117μ
V — 139μ	XII — 117μ
VI — 139μ	XIII — 108μ
VII — 135μ	XIV — 90μ
VIII — 135μ	XV — 81μ
IX — 126μ	XVI — 63μ

TÓRAX medindo da borda anterior do mesonoto à posterior do escutelo 513μ. *Asas* (Estampa III, fig. 19) com 1935μ de comprimento por 568μ de largura, medindo as diversas partes:

$\alpha = 497\mu$ *Índice alar*:

$\beta = 213\mu$ $\frac{\alpha}{\beta} = 2.3$

Fig. 20 — Genitalia de *F. dunhami*

Fig. 21 — Genitalia de *F. melloi*

Fig. 22 — Genitalia de *F. wagleyi*

$\delta = 35\mu$ $\qquad \frac{\alpha}{\gamma} = 2.0$

$\gamma = 248\mu$ $\qquad \frac{\alpha}{\delta} = 14.2$

$$\frac{\text{Comprimento}}{\text{Largura}} = 3.4$$

Pernas com os diversos artículos medindo:

Anteriores		*Medianas*		*Posteriores*	
Fêmur	852μ	Fêmur	816μ	Fêmur	923μ
Tíbia	958μ	Tíbia	1171μ	Tíbia	1455μ
1.° Tarso	532μ	1.° Tarso	674μ	1.° Tarso	745μ
2.° Tarso	248μ	2.° Tarso	284μ	2.° Tarso	319μ
3.° Tarso	177μ	3.° Tarso	177μ	3.° Tarso	213μ
4.° Tarso	142μ	4.° Tarso	142μ	4.° Tarso	177μ
5.° Tarso	106μ	5.° Tarso	106μ	5.° Tarso	106μ

ABDOME normal.

GENITALIA (Estampa III, fig. 14, e Estampa IV, fig. 22). *Gonapófise superior* com segmento basal de 378μ de comprimento por 98μ de largura na base; estreita-se gradativamente para o ápice. Cerdas finas e longas, dispostas em fileiras, revestem o segmento da base ao ápice pela face interna do bordo inferior. Segmento distal longo, com 238μ de comprimento por 35μ de maior largura, apresenta quatro espinhos longos e delgados, um terminal, o mais forte, próximo ao qual implanta-se uma cerda fina e curta só observada com grande aumento, um implantado em tubérculo saliente próximo ao têrço distal, um, o mais fino, no meio do segmento, e um, o mais longo, no têrço basal. *Gonapófise mediana* (Estampa III, fig. 16) com 261μ de comprimento por 70μ de largura na base, permanece mais ou menos quadrangular até ao meio, de onde parte superiormente um apêndice, que, dilatando-se na extremidade, termina em ponta romba. A face superior é densamente revestida de cerdas finas dirigidas para a base. A metade distal apresenta-se em lâmina achatada dorso lateralmente e é revestida de cerdas curtas. *Gonapófise inferior* mais longa que o segmento basal da superior, mede 476μ de comprimento por 28μ de largura. *Aparelho espicular* com gubernáculo triangular, fortemente quitinisado, longo e de base estreita. Pompeta (Estampa III, fig. 17) com 154μ de comprimento. Espículos curtos e relativamente grossos, cêrca de duas vêzes e meia maior que o comprimento da pompeta.

DISCUSSÃO TAXONÔMICA

A espécie mais próxima de *F. wagleyi* é o *longispinus* Mangabeira, 1942. Entretanto, *longispinus* se diferencia fàcilmente pela morfologia da ganapófise intermediária (Estampa III, fig. 15), na qual o apêndice que parte da metade do bordo superior apresenta uma das extremidades afiladas e as cerdas que o revestem são longas e recurvada no bordo anterior e curtas e finas na extremidade posterior. Na nova espécie ambas as extremidades dêste apêndice são mais ou menos semelhantes, de ponta romba, e as cerdas são retas, relativamente curtas e tôdas voltadas para a base da gonapófise.

SUMÁRIO

Três espécies novas de *Flebotomus* da Região Amazônica são descritas sob os nomes de *F. dunhami, F. melloi* e *F. wagleyi.* Tôdas aprésentam quatro espinhos no segmento distal da gonapófise superior e gonapófise mediana não bifurcada mas provida de um apêndice na face superior que dá ao conjunto a aparência de uma bifurcação.

REFERÊNCIAS

Damasceno, R., e Causey, O. R.

Estudo sôbre *Flebotomus* no Vale Amazônico. Parte I. Descrição de *F. marajoensis, F. pilosus, F. souzacastroi* e *F. christophersoni* (*Diptera-Psychodidae*), no prelo.

Mangabeira Filho, O.

3.ª Contribuição ao estudo dos *Flebotomus Evandromyia* n. subg. (*Diptera* : *Psychodidae*). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1941, 36 : 215-225.

Mangabeira Filho, O

7.ª Contribuição ao estudo dos *Flebotomus* (*Diptera* : *Psychodidae*). Descrição dos machos de 24 novas espécies. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1942, 37 : 111-218.

Influência da Glicose no cultivo do pneumococo

por

Estacio Monteiro

Em 1939, quando fomos designado para preparar sôro antipneumocócico, no Instituto Oswaldo Cruz, tivemos nossa atenção despertada para a influência da glicose no crescimento do pneumococo. Nesta ocasião, em que necessitávamos grande quantidade de germes para a imunização dos cavalos, tivemos oportunidade de verificar que os meios de cultura glicosados mostravam melhores resultados, sendo o crescimento, em 24 horas, muito abundante.

Desde os primeiros estudos sôbre êste germe, diversos pesquisadores têm acrescentado glicose aos meios de cultura como fator de enriquecimento, mesmo aos meios já muito nutritivos, contendo proteínas, como fizeram CARNOT e FOURNIER (2) e outros.

Em 1904, TURRO (13) empregou, com grande êxito, meio de caldo peptonado com glicose para isolamento do germe do escarro. A concentração da glicose foi de 8%, considerando o A. esta porcentagem como ótima para o pneumococo.

HISS, em 1905 (9), descreveu um método para obter cultura em massa, para fins de inoculação e reações de aglutinação, que consiste em cultivar o germe (pneumococo ou estreptococo) em caldo de carne peptonado com 4 a 5% de glicose e carbonato de cálcio a 1% para neutralizar a acidez produzida pelo metabolismo da bacteria.

Outros AA. têm se dedicado a estudos neste sentido, levando em especial consideração a questão da concentração iônica, tanto a inicial como a resultante do crescimento do germe. Assim, CULLEN e CHESNEY (4) em 1918, mostraram que o crescimento do pneumococo acarreta produção de ácido e que esta acidez é paralela à curva do crescimento, sendo um fator importante na morte e lise do germe.

Com relação à concentração iônica ótima para o bom desenvolvimento, DENRBY e AVERY (5) mostraram ser de pH 7,8. Também, AVERY e CULLEN (1) em 1919, verificaram que em meio glicosado a 1% o pH favorável é idêntico.

* Recebido para publicação a 17 de novembro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Lord e Nye (11), estudando em 1919 a relação entre o pH e a morte e lise das bactérias, mostram que em meio glicosado a 1% o pH final é 5,1, sendo esta acidez o fator bactericida mais importante. Em 1922 (12), em novas pesquisas verificaram que quanto mais ácido o meio, mais ràpidamente morre o pneumococo.

Felton e Dougherty (6) em 1924, num estudo sôbre as diferentes condições relacionadas com a concentração iônica e os diversos ingredientes do meio de cultura, relatam que a glicose a 1%, quando adicionada ao meio (caldo simples com pH 7,3-7,7), neutraliza a ação desfavorável da produção de ácido como também faz com que a perda da virulência seja mais lenta.

Tendo em vista a virulência,são de grande relêvo os trabalhos de Velikanoff e Mikailova (14, 15), que relatam ser as amostras virulentas pouco ativas em sua ação sôbre a glicose. As experiências foram feitas com agar-ascite com 1% de glicose. Neste meio as amostras de isolamento recente crescem mal, porém, depois que perdem a virulência se desenvolvem abundantemente, dando um aspecto esbranquiçado ao meio.

Cotoni, Truche e Raphael (3), no importante trabalho sôbre pneumococos, de 1922, aconselham meio com peptona de Chapoteaut a 4 %, cloreto de sódio a 0,5% e glicose a 0,2%. Relatam que com menor quantidade de glicose (0,1 %) o crescimento não é tão abundante e com maiores porcentagens o meio torna-se muito ácido, sendo os germes atingidos em sua vitalidade.

Em 1929, Wright (17) em um estudo sôbre os diversos fatores que influenciam o crescimento do pneumococo, conclui, quanto à glicose, que é indispensável a 0,2%, para um desenvolvimento luxuriante, sendo o excesso prejudicial, pois determina forte acidez e consecutiva autólise.

A acidez produzida pela ação do pneumococo sôbre a glicose, segundo trabalho de Hewitt (8) de 1932, é devida ao ácido lático, que é encontrado como produto final. Mostrou, em seu trabalho, que 78% da glicose transforma-se em ácido lático.

Atualmente é de prática comum o emprêgo de meios glicosados, contendo proteínas ou não, no manejo geral com pneumococo, tanto para a manutenção de amostras como para isolamento, etc., dependendo a porcentagem da glicose bem como os outros ingredientes da predileção e experiência dos diversos técnicos. Lacorte e Santos (10), por exemplo, preconizam para o isolamento o uso de meio proteico e glicosado.

Com o fim de verificar a quantidade de glicose mais favorável para o desenvolvimento do pneumococo, fizemos uma série de experiências cujo material e técnicas relatamos a seguir.

Material e métodos — As amostras usadas foram em número de oito, sendo sete de procedência americana, recebidas de "Division of Laboratory and Research, Albany" com as seguintes indicações: amostra Neufeld, 1 do tipo I; amostra D. 53 do tipo II; amostra 5-A2 do tipo III; amostra Swintell 34348 do tipo IV; amostra Ambrose 36129 do tipo V; amostra Fiorelli 34350 do tipo VI-a e amostra Burke 34354 do tipo IX. A oitava amostra, do tipo I, foi recebida do Instituto Butantan, altamente virulenta para o camondongo.

O meio de cultura empregado foi o caldo simples, preparado com caldo de carne, peptona a 1% e cloreto de sódio a 0,5%, ao qual adicionamos glicose, quìmicamente pura, nas quantidades de 0.25, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15, e 20 por cento. O pH foi ajustado para 7,6 a 8,0. Usamos tubos de ensaio comuns com 10cc de meio em cada.

Para obtermos o material para as semeaduras cultivamos as diversas amostras em caldo simples com 1% de glicose. Usamos sempre culturas de 24 horas incubadas a 37°C., que diluímos em partes eguais com caldo simples. Estas culturas diluídas foram transplantadas para o meio com as diversas concentrações de glicose, na quantidade de 1cc para cada tubo. Usamos praticar sempre em duplicata as semeaduras, para evitar um acidente que pudesse prejudicar os resultados. Como contrôle fizemos também as semeaduras em caldo simples, sem glicose, para podermos avaliar as diferenças resultantes. Os diversos tubos foram incubados a 37°C e no fim de 24 e 48 horas praticamos a contagem dos germes bem como verificamos o pH.

A verificação do pH, após o desenvolvimento dos germes, foi feita por método colorimétrico, com o emprêgo do Comparador de Hellige e Indicador Universal Merck. Este aparêlho fornece uma escala para leitura de pH 4,5 a 9,0, com intervalos de 0,5, que nos pareceu suficiente para têrmos uma impressão do grau de acidez resultante do metabolismo do pneumococo.

Para a contagem das bactérias empregamos o método de Fries (7) descrito em 1921, que é uma modificação do processo clássico de Wright (16). O processo de Fries adota como elemento de comparação uma emulsão de lêvedos (Saccharomyces) ao invés das células do sangue como o de Wright. Usamos uma suspensão a 5% de fermento Fleishmann em água fisiológica, com 0,5% de formol. Esta suspensão pode ser conservada a uma temperatura de 4 a 5°C durante alguns dias, sem alteração. Para a contagem do número de cédulas por centímetro cúbico preferimos empregar a pipeta de leucócitos, fazendo a contagem na câmara de Thomas. Nesta determinação, para evitar grandes erros, fizemos sempre 5 contagens e tomamos o valor médio, admitindo nos cálculos um êrro de 10^4. Em geral, a solução a 5% dá 5 a 6 milhões de células por centímetro cúbico. De acôrdo com a técnica ori-

ginal de FRIES a emulsão deve ter de 25 a 30 milhões de células por centímetro cúbico, porém conseguimos fàcilmente fazer a comparação com quantidade cinco vêzes menor.

Para a determinação do número de germes misturamos 1cc da suspensão de lêvedos com 1cc de meio de cultura e fizemos esfregaços em lâminas, bem limpas e desengorduradas. A fase mais delicada do método de FRIES é justamente o preparo do esfregaço, pois os lêvedos têm tendência a se aglutinarem, não dando uma distensão uniforme. Depois de feito o esfregaço com o máximo cuidado, usamos o calor para a fixação e a seguir solução ao décimo de Fucsina de Ziehl, durante 1 minuto, mais ou menos, para a coloração. A contagem foi feita ao microscópico com um aumento de aproximadamente 900 diâmetros, tendo-se colocado na altura do diafragma da ocular um pequeno pedaço de cartão preto com um orifício, calculado de maneira a obter mais ou menos um têrço do campo total do microscópio. Nestas condições contamos, de cada lâmina, no mínimo 10 campos e com os dados obtidos determinamos o número de germes por centímetro cúbico.

A quantidade de germes semeados foi prèviamente determinada tendo em vista o número de germes por centímetros cúbico nos diversos tubos de cultura. O quadro I mostra os resultados encontrados, tendo-se na primeira coluna os valores das culturas diluídas ao meio e na segunda coluna os valores nos tubos em experiência, levando-se em conta os 10cc de meio e mais 1cc da semeadura.

QUADRO I

	N.º DE GERMES SEMEADOS (em 1cc.	N.º DE GERMES NOS TUBOS EM EXPERIÊNCIA (em 1cc.
Amer. Tipo I	6.390.000	580.000
Amer. Tipo II	14.860.000	1.350.000
Amer. Tipo III	13.850.000	1.260.000
Amer Tipo IV	15.940.000	1.450.000
Amer. Tipo V	22.000.000	2.000.000
Amer Tipo VIa	17.400.000	1.580.000
Amer. Tipo IX	16.200.000	1.470.000
But. Tipo I	17.750.000	1.610.000
VALOR MÉDIO	15.550.000	1.410.000

Resultados — Os resultados obtidos mostraram claramente, de acôrdo com os dados do quadro II, que a glicose, dentro de certos limites, tem uma ação acentuada sôbre o crescimento do penumococo. A concentração que se mostrou mais favorável foi a de 1%, em relação ao número de germes obti-

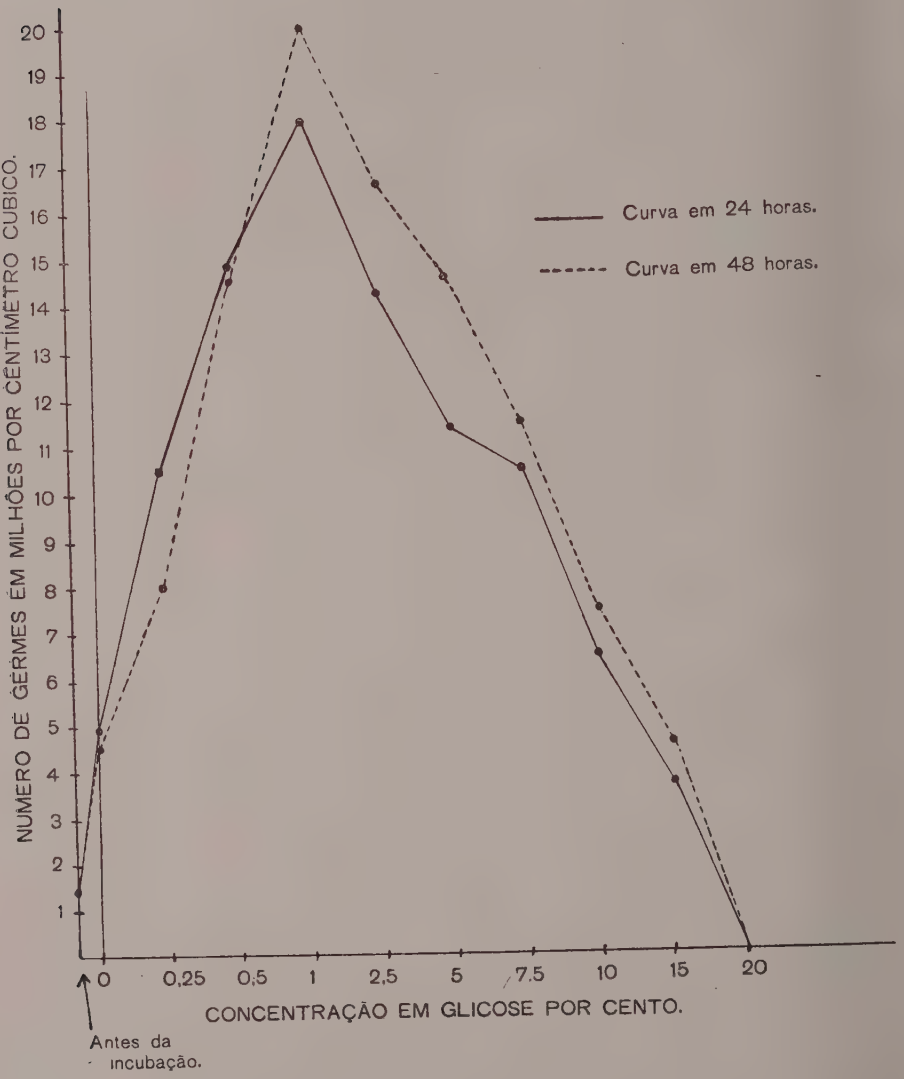
QUADRO II

Quadro com os valores das contagens dos germes nas várias concentrações de glicose, expressando os resultados por centímetro cúbico

			CALDO SIMPLES	COM GLICOSE a 0,25 %	a 0,5 %	a 1 %	a 2,5%	a 5%	a 7,5 %	a 10 %	a 15 %	a 20 %
Resultados após 24 horas de incubação a 37°C.	Amer.	Tipo I	3.360.000	5.310.000	8.350.000	8.200.000	9.540.000	6.980.000	7.420.000	1.800.000	1.670.000	—
		Tipo II	2.360.000	8.440.000	11.700.000	14.900.000	10.060.000	5.560.000	5.340.000	4.730.000	1.900.000	—
		Tipo III	3.950.000	3.440.000	16.500.000	16.800.000	13.800.000	12.700.000	12.300.000	6.980.000	4.020.000	—
		Tipo IV	2.860.000	2.550.000	5.750 000	7.260.000	9.160.000	6.480.000	6.930.000	2.600.000	700.000	—
		Tipo V	4.590.000	22.040.000	25.570.000	27.000.000	19.180.000	17.000.000	12.700.000	8.200.000	4.200.000	—
		Tipo VIa	9.760.000	14.460.000	14.820.000	19.000.000	18.410.000	16.200.000	13.350.000	10.100.000	6.030.000	—
		Tipo IX	9.990.000	19.400.000	24.100.000	32.660.000	18.010.000	13.180.000	13.550.000	8.010.000	6.310.000	—
	But.	Tipo I	2.820.000	8.440.000	13.600.000	19.080.000	16.600.000	13.300.000	12.610.000	9.700.000	5.120.000	—
	VALOR MÉDIO		4.970.000	10.510.000	15.050.000	18.110.000	14.350.000	11.430.000	10.520.000	6.510.000	3.740.000	—
Resultados após 48 horas de incubação a 37°C.	Amer.	Tipo I	2.490.000	3.090.000	6.560.000	10.600.000	7.920.000	5.930.000	8.870.000	2.990.000	2.950.000	—
		Tipo II	1.220.000	2.790.000	8.300.000	17.100.000	16.320.000	15.800.000	12.200.000	8.840.000	5.350.000	—
		Tipo III	2.450.000	2.820.000	17.800.000	17.510.000	14.790.000	14.100.000	7.930.000	2.630.000	2.550.000	—
		Tipo IV	1.610.000	920.000	6.100.000	7.480.000	6.720.000	5.590.000	5.810.000	5.630.000	1.410.000	—
		Tipo V	7.580.000	10.700.000	22.510.000	27.090.000	21.110.000	18.060.000	13.130.000	8.900.000	5.320.000	—
		Tipo VIa	9.980.000	16.300.000	19.150.000	25.620.000	20.660.000	17.870.000	12.790.000	9.610.000	5.800.000	—
		Tipo IX	9.200.00	19.160.000	21.700.000	29.810.000	20.830.000	17.900.000	12.750.000	10.050.000	7.220.000	—
	But.	Tipo I	3.130.000	7.870.000	16.020.000	26.910.000	25.090.000	21.900.000	18.400.000	11.800.000	5.380.000	—
	VALOR MÉDIO		4.710.000	7.960.000	14.770.000	20.260.000	16.680.000	14.650.000	11.490.000	7.560.000	4.500.000	—

NOTA — Todos os cálculos foram realizados com aproximação, admitindo-se um êrro de 10^4.

CURVA DOS VALORES MÉDIOS OBTIDOS NAS CONTAGENS
APÓS 24 E 48 HORAS DE INCUBAÇÃO A 37° C.



dos. Pudemos verificar que nesta concentração o número de germes por centímetro cúbico alcançou em média 18 milhões em 24 horas e 20 milhões em 48 horas. Em tôdas as outras concentrações o número de germes encontrados foi bem menor, havendo uma diferença apreciável principalmente em comparação com o meio sem glicose alguma. O gráfico representando os valores médios em 24 e 48 horas mostra ràpidamente a curva obtida. De um modo geral houve um pequeno aumento no número de germes em 48 horas, porém o aspecto morfológico das bactérias mostrou certa alteração, principalmente quanto às dimensões dos cocos, que se apresentaram muito aumentados, dando impressão de degeneração. Estas observações foram anotadas com tôdas as concentrações de glicose e também com caldo simples, o que faz crer não esteja o referido aspecto morfológico em relação direta com a glicose, mas sim com o esgotamento do meio e o grau de acidez. Fato curioso foi o observado nos tubos com 20% de glicose, nos quais não houve crescimento algum e os germes semeados desapareceram completamente em 24 horas.

Concomitantemente fizemos as determinações de pH e verificamos que entre as concentrações de 0,5 a 7,5% de glicose a acidez é muito pronunciada dentro de 24 horas indo o pH para 5,0 a 4,5. No caldo simples a acidez foi pouco acentuada, com um pH de 7,0 aproximadamente. Nas outras concentrações de glicose, à exceção do tubo com 20% de glicose no qual não houve crescimento nem alteração de pH, tivemos ocasião de verificar que o grau de concentração iônica se mostrou mais ou menos entre 6,0 e 5,5. Tanto em 24 como em 48 horas os resultados foram idênticos, não havendo, portanto, um aumento de acidez em relação com o aumento de tempo de incubação, depois das primeiras 24 horas.

Conclusões — I — O penumococo desenvolve-se com maior atividade em meio contendo 1% de glicose.

II — Com menores porcentagens de glicose o crescimento não é tão abundante. Com porcentagens acima de 1% o número de germes por centímetro cúbico de meio é tanto menor quanto maior a concentração de glicose, até o limite de 20% no qual não se observa crescimento algum.

III — O pH final, em meio de caldo glicosado a 1 %, é de 4,5 a 5,0 aproximadamente.

Summary and conclusions:

I — Pneumococcus develops more actively on media containing 1% of glucose.

II — When smaller percentages of glucose are used, growth is not so abundant. When percentages above 1% are used, the number of germs per cubic centimeter of medium is in a lower proportion, the higher the concentration of glucose is, up to the limit of 20% in which no growth at all is observed.

III — Final pH in 1% glucose broth medium is approximately 4.5 to 5.0.

BIBLIOGRAFIA

1) Avery, O. T. & Cullen, G. E.

1919. Hydrogen ion concentration of cultures of pneumococci of the different types in carbohydrate media.
J. Exp. Med. 30, pgs. 359-378.

2) Carnot, P. & Fournier, L.

1900. Recherches sur le pneumocoque et ses toxines.
Arch. Med. Exp. & Anat. Path. 12, pgs. 357-378.

3) Cotoni, L., Truche, C. & Raphael, A.

1922. Pneumocoques et affections pneumococciques.
Monographies de l'Inst. Pasteur. Paris.

4) Cullen, G. E. & Chesney, M. A.

1918. A note on the production of acid by pneumococci.
J. Exp. Med. 28, pgs. 289-296.

5) Dernby, G. K. & Avery, O. T.

1918. The optimum hydrogen ion concentration for the growth of pneumococcus.
J. Exp. Med. 28, pgs. 345-357.

6) Felton, L. & Dougherty, K.

1924. Influence of hydrogen ion concentration and of ingredients of plain broth on the virulence of pneumococci.
J. Exp. Med. 39, pgs. 155-169.

7) Fries, K. A.

1921. Eine einfache Methode zur genanen Bestimmung der Bakterienmengen in Bakteriensuspensionen.
Centr. f. Bakt. u. Paras. Or. 86, pgs. 90-96.

8) Hewitt, L. F.

1932. Bacterial metabolism. Glucose breakdown by pneumococcus variants and the effect of phosphate thereon.
Bioch. J. 26, pgs. 464-471.

9) Hiss, P. H.

1905. A method for obtaining mass cultures of bacteria for inoculation and for agglutination test; with special reference to pneumococci and streptococci.
J. Exp. Med. 7, pgs. 223-227.

10) Lacorte, J. G. & Santos, M.

1939. O pneumocóco; caracteres biologicos.
Acta Med. 4, pgs. 141-147.

11) Lord, F. T. & Nye, R. N.

1919. The relation of the pneumococcus to hydrogen ion concentration, acid death-point and dissolution of the organism.
J. Exp. Med. 30, pgs. 389-399.

12) Lord, F. T. & Nye, R. N.

1922. Studies on the pneumococcus. Acid death-point of the pneumococcus.
J. Exp. Med. 35, pgs. 685-687.

13) Turro, R.

1904. Le glycose dans les cultures du pneumocoque.
J. Phys. & Patn. Gener. 6, pgs. 718-719.

14) Velikanoff, J. & Mikailova, Z.

1925. La fermentation des hydrates de carbone, comme indice de l'avirulence des pneumocoques.
J. Microb. Path. & Mal. Inf. (en russe) 2, pg. 62. Abst.: Bul. Inst. Past. 24, 355, 1926.

15) Velikanoff, J. & Mikailova, Z.

1930. La perte de virulence du penumocoque et ses rapports avec les hydrates de carbone.
C. R. Soc. Biol. 105, pgs. 295-297.

16) Wright, A. E.

1902. On same new procedures for the examinations of the blood and of bacterial cultures.
Lancet, 2, pgs. 11-17.

17) Wright, H. D.

1929. The effect of certain factors upon the growth of the pneumococcus.
J. Path, & Bact. 32, pgs. 203-227.

Ensaios de micologia

Contribuição ao conhecimento dos cogumelos patogênicos em Minas Gerais (*)

pelo

Dr. Octavio de Magalhães

(Com 1 figura colorida e 6 em negro no texto)

Já há alguns anos, na filial do Instituto Oswaldo Cruz, em Belo Horizonte, e no Instituto Biológico Ezequiel Dias, que vimos estudando sòzinho ou em colaboração com o distinto colega Dr. Aroeira Neves, os cogumelos patogênicos ou não em Minas Gerais.

Nossa coleção de cogumelos no Instituto Biológico Ezequiel Dias, em setembro de 1941, era de cêrca de 333 culturas de espécies bem classificadas e arquivadas, afora as que, com perfeita técnica de micologista acabado, tinha na sua própria coleção o Dr. Aroeira Neves.

Estávamos arquivando e selecionando também cogumelos levuriformes, para estudo de fermentações com fins industriais, secção que mais tarde pretendíamos organizar no Instituto mineiro. Sem êrro, poder-se-ia calcular em 450 espécies o número de cogumelos da micoteca do Instituto Biológico naquela época. Era, sem dúvida, uma das mais ricas coleções nesse gênero no Brasil.

Durante as nossas pesquisas, indentificamos e descrevemos mesmo alguns fungos novos patogênicos em Minas Gerais. Uma coisa, porém, apuramos: os casos registrados e publicados de otomicoses, no grande Estado central do Brasil, não eram freqüentes. Em nosso arquivo encontramos, em 14 de junho de 1923, uma observação dos serviços do Prof. Ildeu Duarte, de cujo doente com otomicose o Dr. Aroeira Neves insulou o *Aspergillus flavus* Link, 1809. O. da Fonseca Filho já havia assinalado uma observação de otomicose por êsse cogumelo, na clínica do Prof. Crowe, em Baltimore nos Estados

---

(*) Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz. Divisão de Estudos de Endemias, Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina da U. M. G. Comunicação à Sociedade de Biologia de Minas Gerais, na Sessão de 20-7-44.

* Recebido para publicação a 6 de dezembro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Unidos da América do Norte. De outubro de 1941 a outubro de 1944, insulamos numerosos cogumelos patogênicos de lesões as mais variadas: Esporotricoses, Moléstia de Lutz, Eritrasmas, lesões micóticas vaginais e bucais, Pityriasis versicolor, Herpes circinado, etc. De cada uma dessas lesões insulamos os cogumelos respectivos, naqueles casos em que a cultura é permitida pela técnica comum da micologia. Identificamos assim 5 *Rhinocladium Beurmanni* HEKTOEN e PERKINS, 1900; 1 caso de *Actinomyces minutissimus* BUCHARDT, 1859; 2 de *Malassezia furfur* CH. ROBIN, 1852; 2 de *Candida albicans* CH. ROBIN, 1853, de lesões bucal e vaginal; 2 *Microsporum felinum* FOX e BLAXALL, 1896, de lesões cutâneas; 2 de *Actynomices* ainda em estudos, etc.

Uma das observações de Esporotricose é digna de registro especial. E' a primeira que arquivamos no gênero e não conhecemos referências na literatura universal.

Observação — F. L. B. — Moreno, brasileiro, casado, morador à margem do Rio Doce, perto de Governador Valadares, Estado de Minas Gerais.

O paciente tinha 35 anos de idade, de constituição robusta, e era lavrador abastado da região.

No histórico do indivíduo não há moléstias graves a assinalar. Teve as doenças próprias da infância: sarampo, coqueluche, cachumba, etc. Era vacinado contra a varíola e dizia ter uma saúde magnífica, apenas lhe incomodando a lesão que apresentava no momento.

O exame dos aparelhos: respiratório, circulatório, urinário, digestivo e nervoso nada nos revelou digno de registro. O paciente apresentava, na parte mediana da parede anterior do ventre, em tôrno da região umbilical, uma série de pequenos nódulos, cinco ou seis, duros, que não pareciam aderentes à pele, sendo que um dêles apresentava flutuação e nenhum era doloroso. O desenho (I) esquemático que juntamos dá uma idéia aproximada do aspecto e situação da lesão.

Pouco tempo antes de vir para Belo Horizonte, um dos nódulos se ulcerara, apresentando um trajeto fistuloso, sanguíneo purulento. O paciente não tinha febre e não havia deixado suas ocupações habituais. Procurara Belo Horizonte, porque tôda a terapêutica tentada havia falhado e desejava por isso esclarecer definitivamente a origem daquela doença, tanto mais quanto o processo ulcerativo de um dos nódulos o obrigava a trazer constantemente um curativo oclusivo. O exame clínico mostrava que alguns nódulos eram duros, lenhosos e a disposição geográfica dos mesmos lembrava a que se costuma ver em certas infecções linfangíticas. Em conjunto dava o aspecto verrucoso.

F. L. B.

Esporotricose localizada, verrucóide, da região umbilical, por dentada de peixe.

No histórico do doente não havia o passado sifilítico, nem tinha o mesmo sinais evidentes da moléstia. A pesquisa no líquido purulento retirado do nódulo fechado, veio demonstrar, pelo exame direto, a ausência de bacilos ácido-álcool resistentes, de *Coccus*, etc. A coloração pelo Giemsa, notamos apenas a presença de granulações pequenas, bem coradas, com duplo contôrno. As sementeiras foram puras e abundantes para culturas do *Rhinocladium Beurmanni* (fot. 1).

O histórico da doença é interessante, porque o paciente assegura que o seu mal se iniciara por uma *dentada que lhe dera um peixe*, não identificado, justamente no ponto da ulceração atual, na região umbilical, quando se banhava, inteiramente nu, havia dois meses passados, no Rio Doce, Estado de Minas, próximo à residência do paciente. Logo após a dentada, escorreu pequena quantidade de sangue, a qual foi imediatamente estancada pelo paciente. Algum tempo após à dentada do peixe, não podendo precisar a data, apareceu no local uma pequena "espinha", não dolorosa, e que em breve se transformou em um pequeno nódulo, também indolor, e, após, outro nódulo, que se multiplicara, até chegar ao estado atual da lesão. O diagnóstico não podia ser outro: Esporotricose localizada, nodular, verrucóide, ulcerada. A terapêutica pelo iodureto de potássio curou rápidamente o doente.

Foto 1

Cultura, em Sabouraud, de *Rhinocladium Beurmanni* insulado da lesão umbilical provocada por dentada de peixe. (F.L.B.

Esta observação merece alguns comentários.

Em primeiro lugar, não conhecemos registro dêsse processo de contaminação pelo *Rhinocladium*. Já havíamos assinalado, no Rio Grande do Sul e em Minas Gerais, infestação por êsses fungos, de indivíduos que haviam recebido ferimentos por:

a) fio de ferro;
b) picada de agulha de coser;
c) espinho de roseira;

d) pedaço de madeira suja de terra;
e) faca de cozinha;
f) martelada;
g) dentada de rato e, já agora,
h) dentada de peixe.

Em algumas de nossas observações, a origem da moléstia ficou desconhecido, realmente indeterminada, pois os pacientes negavam qualquer traumatismo ou acidente local. Em 55 casos de Esporotricose de todos os tipos, só insulamos das lesões o *Rhinocladium Beurmanni.*

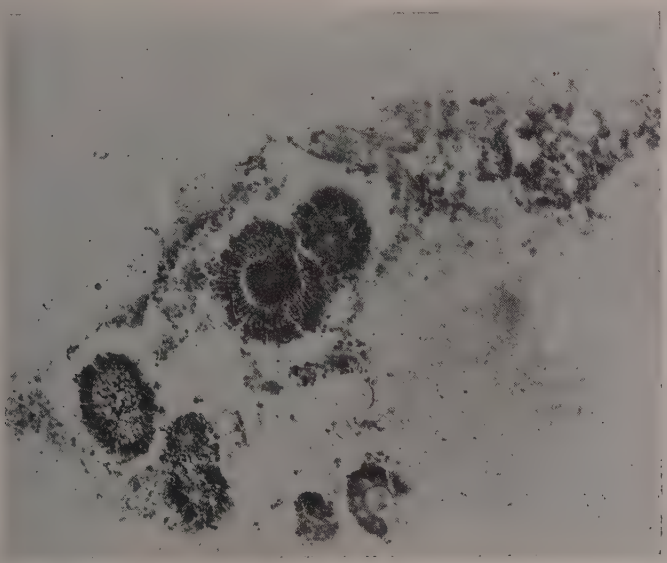
Uma das fotografias que hoje estampamos (fot. 2), é justamente de uma fórma linfangítica, gomosa, ascendente, não ulcerada com o "cancro de inoculação", ou melhor, o esporotricoma inicial, na região da base do indicador esquerdo, por ferimento de faca de cozinha, provàvelmente poluída com o Esporotrico ou, inoculando o fungo, que existia sôbre a pele suja. Êste caso também se curou ràpidamente com a medicação ioduretada, via bucal.

Foto 2
Forma linfagítica, gomosa, ascendente de esporotricose. Esporotricoma inicial por ferimento de faca de cozinha. D.M.G.

O capítulo de otomicose não nos tem fornecido muitos exemplares de cogumelos patogênicos, em nossa já longa observação em Minas Gerais. O que CLARENCE chama de "Tropical ear", pode ser dividido, no que respeita ao canal auditivo externo, em:

- ω) Infetuosa
  - 1 — Quanto à origem
    - *A*) primitivas
    - *B*) secundárias
  - 2 — Quanto à etiologia
    - *C*) bacterianas
    - *D*) vírus
    - *E*) micóticas
    - *F*) mistas.
- α) Não infetuosa

As do segundo grupo *B* são, de regra, conseqüência de propagação de infestação das regiões vizinhas da face e couro cabeludo ou de origem endógena pelas moléstias generalizadas. Nosso estudo visa apenas os grupos *A* e *E* da nossa subdivisão, isto é, primitivas e micóticas do canal auditivo externo, ou, como chamam alguns especialistas: "Otite externa micótica".



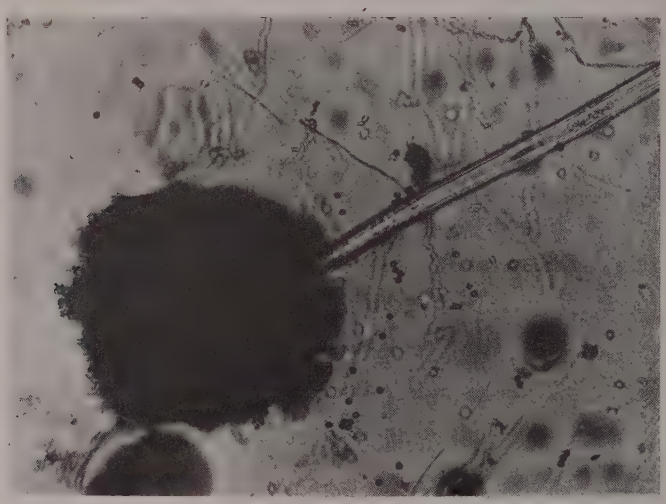
Corte transversal na pseudomembrana retirada do ouvido. Nota-se na frutificação aspergilar a coroa de esterigmas e a massa de espórios.

As micoses primitivas do canal auditivo externo, compreendendo lesões pseudomembranosas, de côr vária e nodulares, têm representantes nos seguintes gêneros e classe:

GÊNERO — *Aspergillus* — MICHELLI, 1729; *Penicillum* — LINK, 1809; *Actinomyces* — HARZ, 1867; *Candida* — BRECKHOUT, 1923; *Rhinocladium* — SACCARDO e MARCHALL, 1885; *Lichteimia* — VUILLEMIN; 1904; *Torulopsis* — BERLESE, 1894; *Glenosporopsis* — O. DA FONSECA, 1943; *Scopulariopsis* — BAINIER, 1907; *Mucor* — FRIES, 1832; *Rhizomucor* — LUCEDT ET COSTANTIN, 1900; *Alternaria* — NEES, 1817; *Monilia* — GMELIN, 1797; e *Bargellinia* — BORZI, 1888.

CLASSE { Protomicetos — ENGLER e GILG, 1924.

Em algumas localidades tropicais, como na Malásia, segundo GALLOWAY, 70% das enfermidades do ouvido são micóticas, principalmente entre a população européia. No Japão a otomicose é rara, pois foram apurados apenas 30 casos, em 3.952 exames, ou sejam 0,7%. As publicações sôbre o assunto

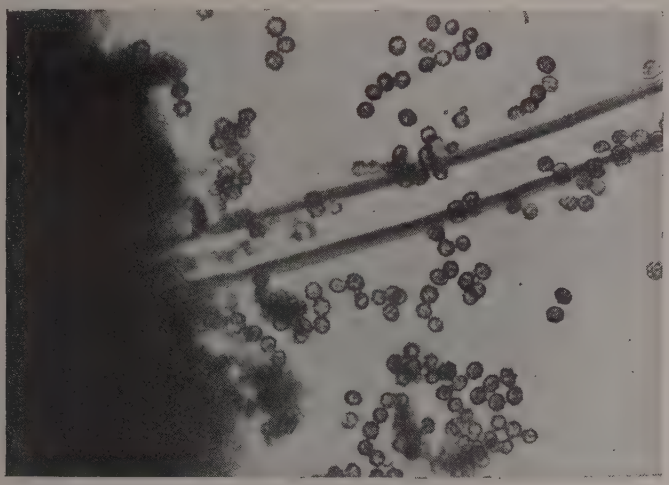


Cultura de *Aspergillus fumigatus* Czapek-Dox. Frutificação aspergilar.

são numerosas no mundo inteiro. Os pacientes ora nada acusam, ora se queixam de sintomas vários: prurido, zumbido no ouvido, sensação de plenitude local, dores com crises noturnas, etc.

O primeiro caso que tivemos de otomicose, pessoalmente, foi há cêrca de doze anos, de uma lesão nodular, sendo que um dos nódulos pequenos já havia supurado, da moléstia de LUTZ, com localização primitiva no conduto auditivo externo do lado direito, não atingindo ao tímpano. O diagnóstico foi feito por punção do nódulo fechado, sementeira em ágar-sangue, Sabouraud e a nossa ficha acusava tratar-se de um caso nítido de inoculação local, por um pedaço de palha ou madeira, provàvelmente sujo com o cogumelo.

O doente B. V. tinha o hábito de coçar o ouvido com palhas, pedaços de madeira, palitos, fósforos, etc. nas suas viagens pelo interior do Estado, no exercício da sua profissão de "viajante". Êle morava em Juiz de Fora,



Cultura de *Aspergillus fumigatus* Czapek-Dox. Frutificação aspergilar espórios.

mas procurara Belo Horizonte, porque a lesão não cedia a medicação de espécie alguma e estava evoluindo para pior. Naquela época foi empregada como medida radical a diatermo-coagulação, injeções de ioduretos de sódio, potássio, pincelamento local com azul de metileno, tendo-se curado o paciente.

Hoje trazemos dois casos de otomicose, provocados por cogumelos do grupo dos *Aspergillus*.

Eis as observações:

A. P. F., 5 anos de idade, residente à rua Veneza, 343.

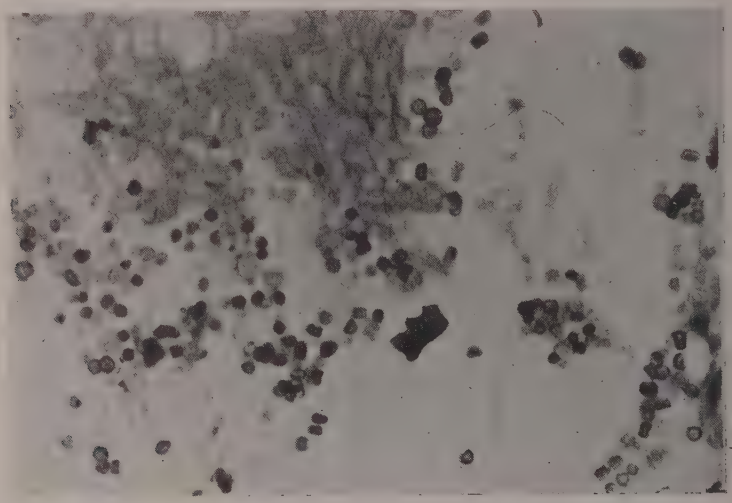
Diagnóstico — Otomicose do O. D.

História — Há cêrca de 6 meses, a criança começou a queixar-se de pruridos no O. D., acompanhados, de 3 meses para cá, de ferroadas e eliminação de crostas.

Exame — O. E., aspecto normal. O. D., massas negras, enchendo tôda a luz do conduto, que é muito doloroso ao toque.

Tratamento — Limpeza: álcool a 40° e Fungol.

R. E. M. — 7 de maio de 1942, com 40 anos de idade, profissão: doméstica. Residente à Rua Manuel Macedo, 215.



Corte da massa pseudomembranosa retirada do ouvido. Veem-se os espórios amarelados e a trama irregular de filamentos micelianos.

Diagnóstico — Otomicose do O. E.

História — Há duas semanas, dor do O. E., acompanhada de prurido Hemicrania.

Exame — O. D., normal. O. E., massas escuras no fundo do conduto, em contato com o tímpano.

Tratamento — Limpeza: álcool a 40° e Fungol.

Laboratório — Material colhido no ouvido.

Positiva para *Aspergillus sp?* em 26-5-42

Pesquisa de cogumelo:

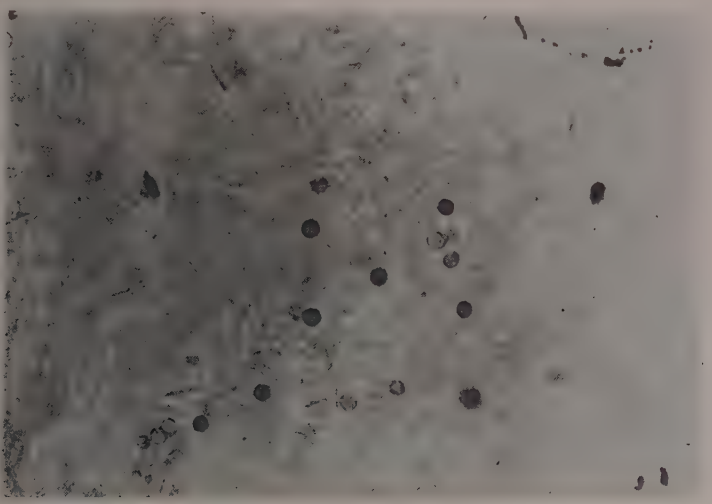
Cópia do Arquivo do Serviço de Otorinolaringologia da Faculdade de Medicina, do Prof. Ildeu Duarte.

Feita por *José Velludo, ex-interno* (*).

Das lesões de ambos os casos insulámos, em cultura pura, o *Aspergillus fumigatus* — Fresenius, 1841 (Beitraege zur Mykologie, Seit 81, es-

(*) Estas duas observações foram copiadas, após a licença do nosso eminente colega Prof. Ildeu Duarte, a quem nos confessamos agradecido.

tampa 10, figs. 1-11) e nos cortes do exame diréto da material das lesões, encontramos o parasito em estado de pureza. Nas placas do meio Czapek-Dox o crescimento dêsse *Aspergillus* é rápido a 37°, na estufa, e mais lento



Material retirado do ouvido em lactofenol. Espórios.

Corte da crosta retirada do ouvido mostrando o *Aspergillus fumigatus*. O corte apanhou em várias alturas a vesícula.

à temperatura a 18 e 20°. Na estufa a 37°, com quatro ou cinco dias de evolução, as colônias têm 1,5 cm. de tamanho, são floconosas, aveludadas, verde-oliva ou verde-escuro na parte anterior, sôbre um fundo branco ou branco-amarelado, tornando-se espessas e mesmo enrugadas, além de uma orla branca irradiante, finíssima, transparente (fot. 5/6).

Já nesta época, as culturas insuladas têm o aspecto fuliginoso, fumacento, o que, aliás, deu o nome à espécie. Com a idade, as culturas ficam

Foto 5

Aspergillus fumigatus. (R. M.) Otomicose. Cultura de 5 dias em Czapek-Dox.

inteiramente negras e confluentes, dominando inteiramente o tubo de cultura e fechamento os meios da sementeira, com a fuligem característica.

No Sabouraud maltosado, o aspecto é semelhante ao primeiro e o crescimento a 20° faz-se lentamente. Nada há de mais digno de nota da sementeira dêste cogumelo, nos demais meios de cultura artificiais empregados em micologia. O micélio do cogumelo é filamentoso, septado, ramificado, claro ou de côr oliva. Os espórios medem de 2 a 4 *micra*, são globosos, às vêzes crenelados, de côr marrom, quando insulados, ou verde-escu-

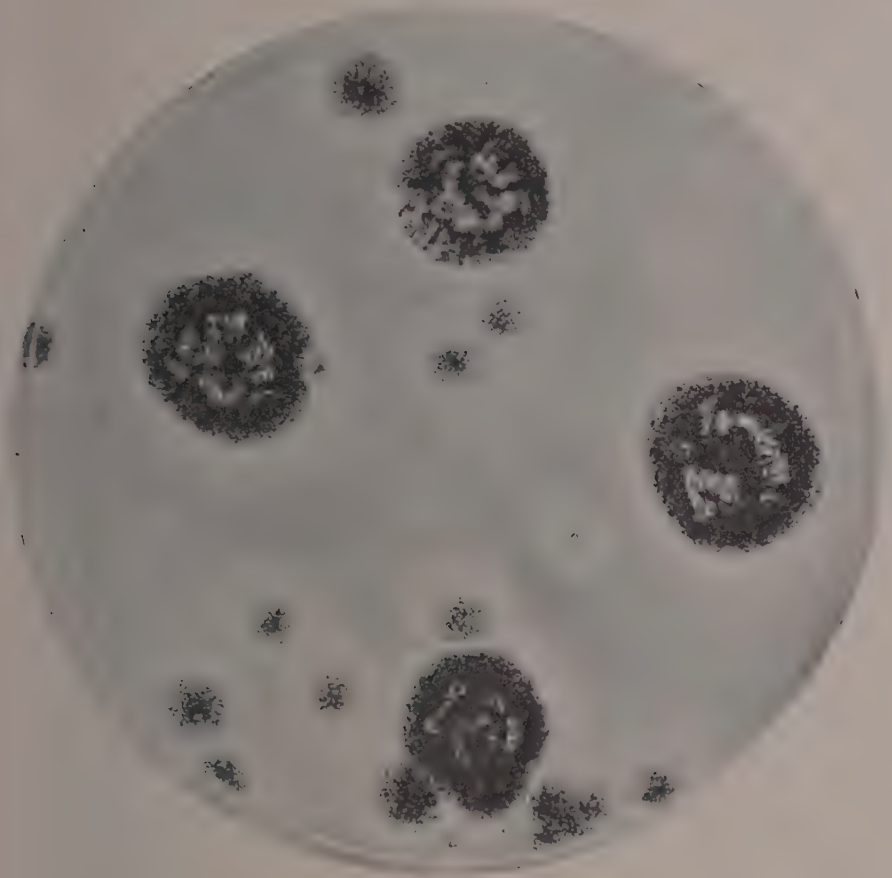


Foto 6

Aspergillus fumigatus. Lesão do ouvido. (R. M.) Cultura a 37°. 7 dias. Veem-se colônias em várias épocas de desenvolvimento. Czapek-Dox.

ro, quando em massa. Conidióforos eretos, com 300 a 500 *micra* de tamanho, fialídeos, em paliçada sôbre a vesícula. Cabeça em 111 *micra* de *média*, 128

de máxima e 93 *micra* mínima de tamanho. Foram inoculados 2 coelhos, via intravenosa, com culturas recentes e de 3 meses. Ambos resistiram.

O *Aspergillus fumigatus* é a espécie do grupo mais encontradiça, parasitando um grande número de animais domésticos, principalmente aves, e também já foi registrada entre animais selvagens. No homem, a Aspergilose pulmonar é moléstia já muito antiga e conhecida de numerosos autores. Os espórios dêstes cogumelos são bastante espalhados na natureza e daí a facilidade com que êles contaminam os meios de cultura, feridas, etc. Têm também uma certa predileção pelas aves, mas os mamíferos, coelho, cobaio, macaco, também podem infestar-se experimentalmente, principalmente nas inoculações intravenosas. Nas aves, a Aspergilose tem uma variada forma clínica, já se apresentando com surtos epizoóticos, já com carater esporádico. Conforme a localização dominante do cogumelo nas aves, temos as formas clínicas: respiratória, peritoneal, articular, digestiva e cutânea. No homem, além da localização pulmonar, temos a forma córnea, os abscessos cutâneos, semelhando a abscessos tuberculosos, em feridas cutâneas de tratamento impróprio, em otomicoses, etc.

Em 36 casos de otomicose, Siebenmann notou 16 vêzes o *Aspergillus fumigatus*. Isto bem demonstra a freqüência da infestação do ouvido por êste cogumelo, no homem. Já têm sido assinaladas otomicoses pelos:

Aspergillus hortai — Langeron, 1922.

Aspergillus niger — Van Tieghen, 1867.

Aspergillus montevidensis — Talice e Mackinnon, 1932.

Aspergillus nidulans — Eidam, 1883, etc., ao todo cêrca de 17 espécies diferentes de Aspergiláceas.

Há micetomas aspergilares pelo *Aspergillus Bouffardi* — E. Brumpt, 1906; pelo *Aspergillus Nidulans* — Eidam, 1883, descritas por Nicole e Pinoy em 1906; o *Aspergillus Amstelodami* — Mangin, 1909, descrito por Olympio da Fonseca Filho no Rio de Janeiro, em 1929; o *Aspergillus niger* — Van Tieghen, 1867, descrito em 1930 por Bartolomeu Cartia. Há ainda outros *Aspergillus* que têm sido apontados como patogênicos, mas ainda nada há de definitivo sôbre a validade das espécies e o poder patogênico dos mesmos.

RESUMO

O autor diz que, de outubro de 1941 a dezembro de 1943, insulou numerosos fungos patogênicos de lesões as mais variadas. Obteve culturas puras de 5 casos de *Rinocladiose*, 3 de Moléstia de Lutz, apurou um *Acti-*

nomyces minutissimus, 2 de *Malassezia furfur* e 2 *Actinomyces,* ainda em estudos, etc.

Uma das observações de Esporotricose merece referência especial. Tratava-se de um indivíduo, morador em Governador Valadares, que apresentava uma lesão gomosa, nodular e verrucóide, fistulosa, localizada na região umbilical, provocada pela *dentada de um peixe,* de espécie ignorada, que atacou o paciente quando êste se banhava, completamente despido, nas águas do Rio Doce.

O ponto da dentada sangrou ligeiramente e pouco depois começavam a aparecer os nódulos, que se sucederam progressivamente sem perturbar o estado geral do paciente.

As sementeiras do pus de uma dessas gomas deram culturas puras do *Rhinocladium Beurmanni,* única espécie que o autor até hoje insulou, em 55 casos de Esporotricose em Minas Gerais.

O autor já havia registrado a moléstia pela dentada de ratos, pelos ferimentos de espinhos de roseiras, pedaços de madeira, facas de cozinha, marteladas etc. Pensa, porém, que a moléstia produzida pela dentada de peixe é a primeira vez que se faz referência na literatura.

Referiu-se depois o autor aos casos de Otomicoses que lhe chegaram às mãos em 1942, no serviço do Prof. Ildeu Duarte. Dá o resumo das observações e concluiu que se tratava de lesões produzidas pelo *Aspergillus fumigatus* de Fresenius, 1841, de acôrdo com as lesões histopatológicas e as culturas que obteve.

SUMMARY

The author says that, from October 1941 do December 1943, has insulated numerous pathogenic fungi of the most varied lesions. He obtained pure cultures of 5 cases of Rhinocladiosis, 3 of Lutz disease, verified one Actinomyces minutissimus, 2 of Malassezia furfur and 1 Actinomyces, still under study, etc.

One of the observations of Sporotrichosis deserves a special reference. It refers to an individual, living in Governador Valadares, who presented a gummy, nodular lesion and verrucoide, fistulous, localized in the umbilical region, caused by the *bite of a fish,* kind unknown, that attacked the patient when bathing, naked, in the waters of the Rio Doce, State of Minas Gerais.

The place of the bite bled slightly and soon after the nodules began to appear, progressively, without affecting the general state of the patient.

The sowing of the pus from some of these "nodules" gave pure cultures of *Rhinocladium Beurmanni*, the only kind the author has insulated up to the present in 55 cases of Sporotrichosis in Minas Gerais.

The author had already registered the disease caused by rat-bites, by scratches of rose-thorns, pieces of wood, kitchen knives, blows, etc. He believes, however, this is the first time that the disease caused by the bite of a fich has been recorded.

The author refers next to cases of Otomycoses which passed through his hands in 1942, in the service of prof. dr. Ildeu Duarte. He gives a resumé of his observations and concludes they referred to lesionsproduced by, the *Aspergillus fumigatus* of Fresenius, 1841, according to the histopatological lesions and the cultures he obtained.

BIBLIOGRAFIA

Almeida, Floriano Paulo de,

1939. Mycologia Médica. Estudo das Mycoses Humanas e de seus Cogumelos. — Companhia Melhoramentos de São Paulo (Sweiszflog Irmãos incorporado). São Paulo-Caieiras-Rio de Janeiro.

Brumpt, E.

1936. Précis da Parasitologie — Vols. I et II, Collection de Précis Médicaux, Masson & Cie.

Ballenger, Willian Lincoln, and Ballenger, Howard Charles.

1943. Diseases of the Nose, Throat and Ear. — Medical and Surgical — Eighth Edition, Throughly Revised. Lea & Feliger. Philadelphia.

Costa, Oswaldo, G., Dr.

1943. Esporotricose no Brasil — Brasil Médico, ano LVII, nos. 34-35, págs. 343-347, 21 e 28 de agôsto de 1943. Rio de Janeiro.

De Beurmann et Gougerot

1912. Les Esporotrichoses. — Librairie Felix Alcan, Paris.

Denker, A. Dr., and Albrecht, W., Dr.

1938. Otorrinolaringologia de las Enfermedades de la Boca. — Version de la 11.ª Edición Alemana por el Dr. N. M. Martinez Amador. Gustavo Gili, Editor, Barcelona.

Fonseca Filho, Olympio da

1943. Parasitologia Médica. Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem — Tomo I. Editora Guanabara, Rio.

GILBERT, A. et THOINOT, L.

1910. Nouveaux Traité de Medicine et de Therapeutique — IV. Maladies Parasitaires communes a l'homme et aux animaux, par Mosny *et alt.*, Librairie J. B. Bailière & Fils, Paris.

KEELER, Joseph Clarence

1930. Modern Otology — F. A. Davis comp. Publishers. Philadelphia.

LANGERON, Maurice

1922. Sur un Champignon d'un Otomycose Brésilienne — Stérigmatosytis Hortai n. sp. — Bull. de la Soc. de Pat. Exotique, tome XV, n.º 6, pgs. 383-384.

LEDERER, Francis L.

1943. Diseases of the Ear, Nose and Throat. 4th. Edition. Philadelphia F. A. Davis Co. Publishers.

MAGALHÃES, Octávio, e AROEIRA, Neves

1926. Ensaios de Mycologia. Contribuição para o estudo dos cogumelos em Belo Horizonte. — Mem. do Instituto Oswaldo Cruz, tomo 19, fasc. 2, págs. 245-322 (est. 56-91).

MAGALHÃES, Octávio

1929. Ensaios de Mycologia — Mem. do Instit. Oswaldo Cruz, tomo XXI (com estampas 18-23), págs. 172-181. Rio de Janeiro.

MAGALHÃES, Octávio

1935. Ensaios de Mycologia (com 48 estampas). — Mem. do Inst. Oswaldo Cruz, tomo XXX, págs. 1-55. Rio de Janeiro.

NEGRONI, Pablo, Prof.

1942. Dermatomicosis. Diagnóstico y Tratamiento — Editor Aniceto Lopes. Buenos Aires.

POLLACCI, Gino, Prof.

1927. Trattato de Mico-Patologia Umana — 2 vols. Micose Chirurgiche. Siena. Libraria Editrice Senese.

REDAELLI, Piero — La Tenica Micologica Medica — L. Capelli, editore, Bologna.

REIS, J., e NOBREGA, P. (com a colaboração de A. S. REIS)

1936. Tratado de Doenças das Aves. — Trabalho do Instituto Biológico, S. Paulo. Edição do Inst. Biol. C. p. 2.821. São Paulo, Brasil.

SARTORY, A., et BAILLY, Amour

1923. Les Mycoses pulmonaires et leurs parasites. — Edition Clinique et Laboratoire, Paris.

Belo Horizonte, 31 de outubro de 1944.

A pesquisa bacteriológica post-mortem

por

J. Guilherme Lacorte e Mário Santos

A pesquisa bacteriológica no cadáver tem fornecido aproveitáveis informações ao estudo das doenças infecciosas. Precedeu à era pastoriana e foram as investigações nesse sentido que esclareceram inúmeros casos.

Pasteur iniciou a fase da microbiologia em que o investigador, procura, por todos os meios, isolar o germe causador da doença, criando invidualidades clínicas, algumas já perfeitamente estudadas.

Os métodos de investigações utilizados nesse largo período da história da medicina trouxeram noções importantes à patologia humana.

O isolamento da bactéria de um indivíduo portador de infecção nem sempre é possível, dificultado muitas vêzes pelos doentes, tornando quase sempre impossível estabelecer a verdadeira etiologia.

Tal esclarecimento pode ser obtido pela pesquisa no cadáver, no sangue ou nos órgãos mais atacados pela infecção; por conseguinte, o isolamento bacteriológico *post mortem* continua tendo seu valor prático e científico num serviço hospitalar, dependendo do critério como é feito. Êste gênero de investigação depara com dois problemas: o da contaminação cadavérica por germes não patogênicos e o da bacteriemia pré-agonica, ambos de suma importância. Para muitos autores numerosos doentes sofrem uma invasão bacteriana horas antes de morrer, mesmo que não sejam portadores de infecção, podendo ser patogênico o germe que se isola da corrente sanguínea, confundindo, por isso, os resultados.

A contaminação cadavérica, ao contrário, se faz por contigüidade; germes dos brônquios passam para o sangue do coração, germes dos intestinos passam para outra víscera; daí a flora variada que podemos encontrar nos diferentes órgãos.

A flora de contaminação cadavérica é fácilmente reconhecível.

---

* Recebido para publicação a 11 de dezembro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Achard e Phulpin (1895), investigando 49 casos de autópsias, consideram o fígado como o primeiro órgão passível de ser invadido pela flora cadavérica devido à proximidade do intestino; em seguida, o coração, pela proximidade das vias aéreas.

Nas observações dos autores houve certa coincidência entre os germes isolados do baço e sangue do coração.

Encarando a questão da contaminação cadavérica, os fatos estão perfeitamente esclarecidos, não acontecendo o mesmo com a bacteriemia pré-agônica. Admitem os autores que a via de isolamento para tais germes influi muito. Uns preconizam a veia basílica, outros, a medula óssea e poucos o sangue do coração. Entretanto, consultando a literatura são raros os que fizeram estudo sistematizado do assunto.

Gradwohl (1904), em 50 casos de investigação *post mortem,* encontrou 78% com bactérias no sangue, muito embora não as tivessem durante a vida.

Richey e Goehring (1918), fazendo 730 hemoculturas, encontraram 27,3% de positividade predominando o estreptococo como germe invasor.

Giordano e Barnes (1922), em 189 casos de cultura do sangue e polpa esplênica, encontraram 36% de positividade em 190 casos de punção do baço, 39,4% de positividade, o que lhes fêz aceitar êste órgão como o melhor controlador da bacteriemia terminal.

Epstein e Kugel (1929) isolaram o estreptococo em 79% das culturas do sangue do coração, 67% da medula óssea, 47% do músculo cardíaco e 40% das válvulas normais, admitindo que estas verificações não devem ter nenhuma significação quando se encontrar o estreptococo alfa, o estafilococo áureo, o enterococo, o bacilo cóli e o piociânico, sem que tenham sido isolados durante a vida. Decididamente estas conclusões não coincidem com os nossos resultados e já tivemos ensejo de refutá-las num trabalho anterior, sôbre endocardites.

Dando publicação ao presente trabalho, expomos os resultados de nossas observações em 145 casos de autópsias, tôdas realizadas no Hospital S. Francisco de Assis.

O tempo decorrido entre a morte e a autópsia variou entre 4 e 24 horas, raras vêzes mais.

A pesquisa foi orientada no sentido de isolarmos o provável agente etiológico dos casos de infecção que chegavam ao necrotério sem diagnóstico e no decorrer destas investigações deparamos com interessantes problemas.

Os cadáveres nem sempre foram conservados na geladeira, daí se apresentarem à autópsia com algumas alterações.

Para facilidade de estudo consideramos os resultados das pesquisas bacteriológicas feitas no sangue do coração e na polpa esplênica, por punção com pipeta capilar. O material foi semeado no mesmo dia, em placa e, em seguida, isolado e identificado.

A cultura positiva do baço coincidindo com a esterilidade do sangue do coração pode ser aceita como indício de uma bacteriemia recentemente passada ou pela natureza da doença ou ainda, no período pré-agônico.

De um modo geral, a presença de bactéria na polpa esplênica e sangue do coração deve ser considerada como indício de bacteriemia no período da morte o que confirma as observações de HUNT e COL., em 1929.

Na maioria dos nossos casos isto sempre coincidiu com a presença de lesões anatômicas de natureza bacteriana.

Quando sòmente a polpa esplênica nos fornece germe em cultura pura e estamos em presença de um caso de infecção, podemos admitir a existência passada de uma bacteriemia já não existente no momento da morte.

A positividade do sangue do coração com esterilidade da polpa esplênica podemos considerar como contaminação por contigüidade.

Às vêzes, em casos de endocardite isolamos o estreptococo da válvula cardíaca sem que a cultura do sangue o tivesse revelado.

Não encontramos nunca discordância entre o germe isolado da lesão e o da corrente sanguínea.

Os casos estão divididos em dois grupos principais:

1) Pesquisa do germe sòmente no sangue do coração.
2) Pesquisa do germe no sangue do coração e polpa esplênica.

No primeiro grupo estão integrados todos os nossos casos que atingem a cifra de 145; dêstes, 58,4% são estéreis, figurando entre êles 27 com infecção passível de ocasionar bacteriemia, como sejam: endocardite, pneumonia, broncopneumonia e abcesso do fígado.

As hemoculturas foram positivas em 41,6% dos casos dos quais 36 eram de infecção aguda, 2 de tuberculose, 10 de doenças degenerativas e 17 forneceram germes de contaminação cadavérica.

Em casos de contaminação cadavérica o sangue do coração e baço revelaram os mesmos germes.

No segundo grupo estão compreendidos quatro subgrupos assim distribuídos segundo os resultados bacteriológicos:

a) Sangue do coração (+) Polpa esplênica (+);
b) Sangue do coração (+) Polpa esplênica (—);
c) Sangue do coração (—) Polpa esplênica (+);
d) Sangue do coração (—) Polpa esplênica (—).

No primeiro subgrupo, em 67 casos de cultura simultânea do baço e sangue do coração, 20 forneceram o germe responsável pela infecção aguda.

Sòmente em 4 casos isolamos bactérias sem que os cadáveres apresentassem sinais de infecção.

No segundo subgrupo, entre os mesmos 67 casos apenas 10 revelaram germe no coração quando o baço estava estéril, e os cadáveres apresentavam processos infecciosos.

No terceiro subgrupo também possuimos 10 casos e, dêstes apenas seis são germes de reconhecido poder patogênico.

No quarto subgrupo figuram 17 estéreis e, dêstes, 9 eram casos de infecção possível de ocasionar bacteriemia.

Os germes isolados na totalidade dos casos são os seguintes: *Klesbsiella pneumoniae* 4 vêzes, *Diplococcus pneumoniae* 15, *Streptococcus hemolyticus* 6, *Streptococcus viridans* 2, *Staphylococcus aureus* 9, *Staphylococcus albus* 3, *Neisseria gonorrheae* 1, Difteróide 1, Cantaminação cadavérica 21, Indeterminados 5, perfazendo um total de 67 amostras.

Em alguns dos nossos casos isolamos do sangue do coração e polpa esplênica o estafilococo dourado e branco sem que o cadáver apresentasse indícios de infecção; tal circunstância nos sugere que devemos aceitar com reserva o valor diagnóstico dêste germe.

Damos a seguir, em resumo, as nossas observações. Pelo exame dêsses quadros, em que juntamos as principais alterações anátomopatológicas, teremos uma idéia rápida e de conjunto sôbre as pesquisas executadas e as condições em que foram feitas. Ao mesmo tempo ressaltamos a utilidade de um serviço dessa natureza, nos hospitais, porque nos fornece dados importantes para a elucidação do diagnóstico anátomo-patológico, permitindo, igualmente, diagnósticos retrospectivos.

Aos Drs. C. Magarinos Torres e A. Penna de Azevedo, consignamos os nossos agradecimentos pelo auxílio que nos prestaram durante a execução do presente trabalho.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
1	3.677	T. P. L.	14-38	24 hs.	—	—	—	—	Broncopneumonia bilateral. Tuberculose ulcerativa.
2	4.880	P. J. S.	3-4-40	33 hs.	+	K. pneumoniae	—	—	Pneumonia do lobo inferior do pulmão esquerdo. Nefroesclerose maligna.
3	3.560	A. N. S.	4-10 37	14 hs.	—		+	Bacilo coliforme	Nefropatia crônica. Artérioesclerose. Edema e e hiperemia dos pulmões.
4	3.588	M. J. C.	6-1-38	5 hs.	—				Endocardite verrucosa mitral Estenose e insuficiência da mitral. Sífilis e artérioesclerose.
5	3.516	M. C. S.	21-7-37	6 hs.	—		—		Endocardite ulcerosa, mitral Broncopneumonia confluente de todo o lóbulo de ambos os pulmões.
6	3.587	I. C.	5-7-38	29hs.	+	Indeterminado	—		Pericardite aguda fibrinosa Esplenite aguda. Empiema da cavidade pleural direito.
7	3.604	A. J.	18-1-38	6 hs.	—		—		Nefropatia crônica. Ascite (7500cc) Estenose da coronáriadireita. Infarto anêmico do baço.
8	3.605	A. S.	18-1-38	5 hs.	—		—		Nefropatia crônica. Degeneração mucóide da supra renal Dilatação e hipertrofia das cavidades cardiacs.
9	3.575	L. F.	18-12-37	14 hs.	+	Contaminação Cadaverica			Tubérculose do ambos os pulmões. Empiema. Pneumotorax duplo.
10	3.622	G. E.	2-2-38	27 hs.	—				Laparatomia. Esplenite aguda. Utero em involução. Peritonite aguda circunscrita. Infartos do baço.
11	3.528	A. L. L.	11-8-37	9 hs.	—				Encéfalo malácia. Broncopneumonia dos lobos superiores e inferiores do pulmão direito Pleurite fibrosa aguda direita.
12	3.555	D. C.	27-9 37	14 hs.	—				Arterio esclerose da aorta e das coronarias cardíacas.
13	4.887	A. P.	10-4-40	?	—		—	K. pneumoniae	Esplenite aguda Glomerul'o néfrite difusa. Perihepatite crônica.
14	4.994	A. P. A.	26-9-40	7 hs.	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Endocardite verrucosa aortítica. Infarto cicatrizado dos rins. Edema e congestão dos pulmões.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
15	4 882	P. Z.	3 4 40	19 hs.	+	Staph. aureus	—		Esplenite aguda. Parotidite supurada esquerda. Malária, Dilatação cardíaca.
16	3.593	Nl M. C.	8-1-38	17 hs.	—				Blastoma do corpo uterino. Arterio esclerose Nefropatia crônica. Hiperemia dos pulmões.
17	3.538	E. M. C.	30-8-37	15 h.s	+	D. pneumoniae			Peritonite crônica circunscrita. Hemorragias das pleuras, pulmões e supra renal Nefropatia crônica.
18	3.3535	J. A. M.	25-8-37	22 hs.	—				Endocardite aguda, aórtica Nefropatia aguda. Pancreatite intersticial crônica Fibrose do baço.
19	3.553	L. T. F.	22-8-37	17 hs.	—				Ulcera na região plantar direita linfadenite aguda hemorrágica inguino crural e meresentérica.
20	3.543	F. O.	8-8-37	14 hs.	—				Esplenite crônica fibrosa. Hepatite intersticial crônica Pleurite fibrosa crônica adesiva.
21	3.554	M. P. G.	23-8-37	10 hs.	+	D. pneumoniae			Broncopneumonia dos lobos: inferior do pulmão esquerdo e médio do pulmão direito. Pericardite aguda fibrosa.
22	4.864	J. C.	1-3-40	23 hs.	—				Esplenite aguda. Linfadenite tuberculosa crônica. Edema do pulmão direito. Doença de Hodgkin.
23	3.589	A. C.	6-1-38	?	—				Malária. Hipertrofia e pigmentação do baço. Nefropatia aguda. Icterícia leve.
24	2.107	J. F. S.	18-10-37	22 hs.	—		+	D. pneumoniae	Pneumônia lobar. Broncopneumonia. Esplenite aguda. Pleurite fibrinosa direita
25	3.520	T. B.	4-8-37	7 hs.	+	D. pneumoniae.	+	D. pneumoniae	Endocardite Ulcerosa mitral. Infartos múltiplos do baço e do rim esquerdo.
26	3.532	P. J.	18-8-37	7 hs.	—		—		Carcinoma simplex do estômago com metastases nos gânglios linfáticos. Adenoma da supra renal esquerda.
27	3.534	I. S.	24-8-37	19 hs.	—				Pericardite fibrinosa aguda. Estenosa mitral. Dilatação das cavidades cardíacas, Perihepatite.
28	3 536	A. B. C.	25 8 37	10 hs.	+	Estreptocóco	+	Estrepto hemolítico	Endocardite verrucosa e ulcerosa, Mitral e aórtica. Infarto múltiplo do baço e rim direito.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
29	7.116	N. J. S.	17-7-41	5 hs.	+	Difteroide	+	Difteroide	Endocardite ulcerosa aórtica Insuficiência aórtica. Esplenite aguda. Infartos anêmicos do baço. Hematopericárdio.
30	7.402	M. C. L.	12-1-43	18 hs.	+	Estrepto-hemolitico			Septicemia. Endocardite úlcero-vegetante aórtica e tricúspide Esplenite aguda. Presença do buraco de Botal.
31	7.278	A. R.	1-7-42	24 hs.	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Leptomeningite purulenta. Erosão do rochedo esquerdo. Esplenite aguda.
32	7.275	J. Y. M.	25-6-42	6 hs.	—		—		Abscesso do fígado com ruptura para a cavidade pleural direita com empiema. Esplenite aguda.
33	7.274	L. C.	25 6 42	17 hs.	+	Cont. cadaverica	—		Nefropatia crônica. Peritonite crônica circunscrsa. Perisalpingite crônica. Gastrite atrófica.
34	7.270	E. J.	17-6-41	24 hs.	+	Cont. cadaverica	+	Cont. cadaverica	Blastoma do estômago. Cachexia. Cadáver putrefato.
35	3.582	E. A. S.	29-12-37	14 hs.	+	St. aureus			Petequias na pleura, epicárdio e miocárdio. Esplenite aguda. Pústulas na perna direita. Nefropatia aguda.
36	3.596	E. M. E.	10-1-38	11 hs.	+	Cont. cadaverica			Piopielonefrite. Hemorragias do endocárdio. — Cáchexia.
37	3.586	V. O.	5-1-38	26 hs.	+	Estrepto-hemolitico			Tuberculose ulcerosa extensa de ambos os pulmões Esplenomegalia e pigmentação do baço.
38	3.610	J. S.	24-1-38	98 hs.	+	Bastonete Gram neg.			Hemorragia sub endocárdica. Esplenite aguda. Dilatação das cavidades do coração.
39	3.597	E. A. N.	10-1-38	9 hs.	—				Blastoma do estômago, com metástases dos gânglios linfáticos, perigástricos, pleurais e do mediastino anterior. Caquexia.
40	3.612	S. D.	26-1-38	5 hs.	—		—		Broncipneumonia de todos os lóbulos de ambos os pulmões. Esplenite aguda. Infiltração gordurosa do fígado.
41	3.619	H. S.	28 1-38	7 hs.	—				Cirrose do fígado. Pneumonia lobar do lóbulo superior do pulmão direito. Esplenomegalia, Ansaarca.
42	3.618	J. P. S.	28-1-38	17 hs.	—				Arteriosclerose. Ateroma das coronárias. Aórtite sifilítica Atrofia do coração.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
43	2.320	S. A.	31-1 38	23 hs.	+	Staph. aureus			Aneurisma de croça da aorta com ruptura para a cavidade pleural direita. Congestão passiva do baço.
44	3.678	J. E.	1-4 38	11 hs.	—				Impaludismo agudo. Esplenite aguda. Atrofia parda do coração.
45	23.34	J. F. G.	26-11-37	4 hs.	—				Malária aguda. Aortite sifilítica.
46	2.339	T. P. M.	2.11-34	15 hs.	+	Staph. aureus			Leptomeningite supurativa (pneumocócica) Esplenite aguda. Neoplasma do estômago com metástose no fígado e gânglios vizinhos.
47	3.580	A. J. S.	22-6-38	3 hs.	—				
48	3.578	M. P. M.	22-12-37	20 hs.	—				Tuberculose ulcerosa crônica do lóbulo superior do pulmão esquerdo, Tuberculose peribrônquica e perivascular dos outros lóbulos do pulmões.
49	3.600	S. O.	13-1-938	2 uM—	—				Peritonite tuberculosa. Esplenite crônica fibrosa. Hematoperitoneo.
50	3.594	A. P. S.	10-1-38	22 hs.	+	Staph. aureus			Anemia. Ancilostomose. Edema subcutaneo. Degenerescência gordurosa do fígado e rins.
51	3.590	C. A.	7- -38	?	—				Arterioesclerose. Aortite sifilítica nefrite intersticial crônica. Dilatação do ventrículo esquerdo, caquexia.
52	7.541	L. S.	23-8-43	21 hs.	—		+	Cont. cadaverica	Tuberculose crônica ulcerativa dos pulmões. Periesplenite crônica, fibrosa do baço.
53	7.542	E. J. C.	23- -43	7 hs.	+	Staph. albus	+	Sstaph. albus.	Blastoma da cabeça do pâncreas com matastase no fígado e peritôneo. Caquexia. Periesplenite crônica.
54	7.543	E. C.	23-8-43	8 hs.	+	Cont. Cadaverica			Nefropatia aguda. Utero gravido com feto normal de 9 meses, Hiperplasia linfóide do baço e intestino.
55	7.545	C. S.	26-8-43	10 hs.	—		—		Blastoma. úlcera do piloro Gastrorragia. Periesplenite crônica. Edema e hiperemia dos pulmões
56	7 546	M. J. P.	26 8-43	14 hs.	+	Cont. cadaverica	+	Cont. cadaverica	Trombo endocardite do ventriculo esquerdo. Endoc. crônica aorta. Pericardite fibrinosa circunscrita.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
57	7.547	A. F. R.	26-8-43	25 hs.	+	Cont. cadaverica	+		Anemia. Broncopneumonia do lóbulo inferior do pulmão direito. Edema sub-cutâneo. Degeneração gorda do coração.
58	7.549	J. S. A.	3-9-43	19 hs.	—		—		Pneumonia lobar de ambos os pulmões. Esplenite aguda. Degeneração gorda do fígado.
59	3.558	M. S. M.	19-3-38	18 hs.	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Pneumonia lobar direita. Esplenite aguda. Pericardite crônica. Pleurite aguda fibrosa direita.
60	3.691	A. S.	13-1-38	19 hs.	—		—		Endocardite verrucosa mitral. Broncopneumonia hemorrágica
61	4.816	R. S.	19-2-40	8 hs.	—		-		Tuberculose miliar aguda de ambos os pulmões (pneumonia lobar superior do pulmão direito).
62	4.856	J. M. R.	13-5-40	15 hs.	—		+	Cont. cadaverica	Endocardite crônica aortica. Nefrocirrose. Hiperemia dos pulmões.
63	4.89	M. A. S.	24-4-40	?	+	Cont. cadaverica	+	Cont. cadaverica	Hidropricárdio. Edema dos membros inferiores Utero em involução. Anemia dos rins e fígado
64	4.881	M. O. R.	3-4-40	21 hs.	+	Staph. albus	+	Staph. albus.	Nefrose eclâmptica. Utero em involução. Congestão crônica passiva do baço e fígado.
65	4.869	J. V.	7-3-40	21 hs.			--		Nefropatia crônica. Hiperplasia do baço. Tumefacção turva do fígado. Edema e congestão dos pulmões.
66	4.899	G. Z.	29-3-40	15 hs.	+	Estrepto. hemolitico	+	Estrepto. hemolitico	Broncopneumonia de ambos os pulmões. Esplenite aguda. Nefropatia aguda.
67	7.173	F. A. S.	5-11-41	17 hs.	+	K. pneumoniae	+	K. pneumoniae	Endocardite ulcerosa parietal. Infartos hemorrágicos no pulmão dirçito. Esplenite aguda.
78	4.896	E. S.	24-4-40	12 hs.	—		+	Cont. cadaverica	Aneurisma da aorta. Atrofia e fibrose do baço. Caquexia.
69	4.913	N. P. A.	22-5-40	11 hs.	—		—		Aortite crônica. Fibrose do miocárdio. Hepar lobatum. Congestão crônica passiva do fígado e do baço.
70	4.905	M. S.	6-5-40	40-s.	—		—		Broncopneumonia do lobo inferior de ambos os pulmões. Lobectomia tiroidiana direita Esplenite aguda.
71	4.936	M. C. S.	24-6-40	11 hs	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Pneumonia lobar direita. Esplenite aguda. Icterícia. Tumefação do fígado e rins.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
72	4.894	O. D. D.	23-4-40	4 hs.	—		+	C. cadaverica	Pneumonia lobar do têrço inferior do pulmão direito e esquerdo. Cirrose hepática.
73	4.909	M. L. S.	18-5-40	6 hs.	+	D. pneumoniae	—		Malária aguda. Esplenomegalia Esplenite aguda. Edema e hiperemia dos pulmões.
74	4 887	A. P.	10 4 40	?	—				Glomerulo nefrite difusa. Esplenite aguda. Degenerescência lipóide das supra renais.
75	4.296	A. G.	12-6-40	16 hs.	—		+	Bacilo Gram (-)	Trombose do coração. Tuberculose do fígado. Tuberculose fibrosa do pulmão.
75	4.917	Z. A. F.	29-5-40	17 hs.	+	Indeterminado	+		Fibrose do miocárdio. Arterioesclerose. Congestão crônica parsiva do baço.
77	4.875	M. J. G.	15-3-40	6 hs.	—				Arterioesclerose. Atrofia parda do coração. Esplenomegalia. Coronarite. Atrofia parda do fígado.
78	3.593	N. M. C.	8-1-38	17 hs.	—				Blastoma do corpo do útero. Nefropatia crônica. Arterioesclerose.
79	2.337	M. S.	26-11-37	21 hs.	—				Atrofia parda do coração. Periesplenite e esplenite e crônica. Caquexia.
80	3.620	S. A.	8-1-38	17 hs.	—				Blastoma do corpo do útero. Nefropatia crônica Arterioesclerose.
81	3.613	C. C.	26-1-38	10 hs.	—				Ascite. Nefropatia crônica. Arterioesclerose. Atrofia e fibrose do baço.
82	3.690	O. S. L.	20-4-38	3 hs.	—				Hemotorax direito. Gangrena do lóbulo médio do pulmão direito Esplenite aguda.
83	3.682	C. W. S.	11-4-38	9 hs.	—				Endocardite crônica da aorta. Aortite sifilítica. Dilatação e hipertrofia docoração.
84	3.689	A. C.	18-4-38	20 hs.	—				Tuberculose caseosa dos gânglios linfáticos traqueobrônquicos do hilo do pulmão esquerdo.
85	2.349	M. L. P.	6-12-37	12 hs.	—				Utero em involução. Esplenite aguda. Hemorragias puntiformes das pleuras e do epicárdio.
86	7.223	M. G. N.	2-6-42	19 hs.	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Infartos hemorrágicos múltiplos em ambos os pulmões.

NÚMERO DE ORDEM	NUMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA FOLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
									Cadaver putrefato. Congestão crônica passiva do fígado e baço.
87	7 232	R. P. S.	16 2-41	?	+	Staph. aureus	+	Staph. aureus.	Hemo. angio-endotélio sarcoma do fígado com metastase no baço. Caquexia. Pleurite fibrosa crônica.
88	7.305	G. C.	12-8-42	12 hs.	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Pneumonia lobar de todos os lobos de ambos os pulmões. Nefropatia aguda. Esplenite aguda. Icterícia leve.
89	7.306	D. G. S.	12-8-42	25 hs.	+	C. cadaverica	-		Blastomà do estômago com perfuração. Peritonite Caquexia. Nefropatia crônica. Metatases do blastoma.
90	7.533	D. R. S.	10 8-43	31 hs.	+	Staph. aureus	+	Staph. aureus	Leptomeningite purulenta. Abcessos de todos os lóbulos do pulmão direito. Congestão crônica passiva do baço.
91	7.535	N. M. O.	12-8-43	11 hs.	+	Cont. cadaverica	+	Cont. cadaverica	Colite ulcerativa amebiana. Edema e hiperemia dos pulmões Hidroperitôneo. Congestão crônica passiva do fígado e baço.
92	3.616	O. A. C.	27-1-38	14 hs.	—				Dilatação de ambos os ventrículos do coração. Hemorragia atrofia e fibrose do baço. Anemia dos rins.
93	3 617	H. S.	27 1 38	24 hs.					Tuberculse crônica. Fibrose do lóbulo superior. Nefropatia crônica. Aortite crônica.
94	3.615	J. F. P.	27-1-38	14 hs.	—				Aortite sifilítica. Aneurisma da croça. Infartos no lóbulo inferior direito.
95	3.677	J. P. L.	1 4-38	25 hs.	—		—		Broncopneumonia tuberculosa bilateral. Pneumonia lobar do terço inferior dos lobos inferiores de ambos os pulmões.
96	3.555	D. C.	27-9-37	14 hs.					Arteriosclerose da aorta e das coronárias cardíacas. Pleurite crônica fibros direita.
97	7.173	F. A. S.	5-11-41	17 hs.	+	K. pneumoniae	+	K. pneumoniae	Endocardite ulcerosa parietal. Infartos hemorrágicos no pulmão direito. Esplenite aguda. Infartos anémicos dos rins.
98	4.855	F. T. L.	10-5-40	23 hs.	+	Estrepto hemolitico	+	Estrepto. hemolitico	Endocardite crônica da tricúspide e da aorta. Broncopneumonia do pulmão direito. Esplenite sub-aguda.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
99	3.569	P. P. M.	7-12-37	5 hs.	—		+	B. coliforme	Tuberculose ulcerativa do intestino. Broncopneumonia. Esplenite aguda. Apendicite ulcerativa necrosante.
100	4.885	O. C. S.	8-4-40	16 hs.	+	Estrepto. hemolítico	+	Estrepto. hemolítico	Linfadenite tuberculosa mesentérica. Tuberculose miliar aguda dos pulmões, pleuras, peritôneo, fígado e baço.
101	3.601	A. S.	13-1-38	19 hs.	—		—		Endocardite verrucosamitral. Broncopneumonia hemorrágica dos lóbulos médio e inferior do pulmão direito.
102	7.472	A. T. A.	28-5-43	21 hs.	+	Estrepto. viridans			Abcesso cerebral. Leptomeningite supurada. Sinusite frontal direito. Esplenite aguda. Trombose dos seios cavernosos.
103	7.505	2.S.	5-7-43	14 hs.	+	D. penumoniae	+	D. pneumoniae	Broncoheumonia. Hiperemia do baço e fígado. Degenerescência dos rins.
104	7.511	C. L. A.	6-7-43	7 hs.					Enterocolite pseudo membranosa ulcerativa aguda.
105	7.548	J. M. L.	31-8-43	18 hs.	—		+	Estaph. albus	Tuberculose crônica do ápice de ambos os pulmões. Congestão crônica passiva e fibrose do baço.
106	7.562	J. V.	20-9-43	8 hs.	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Tuberculose caseosa dos gânglios linfáticos do mediastino Tuberculose miliar do fígado e baço Pneumonia.
107	7.563	T. S.	20-.43	6 hs.	+				Pericardite fibrinosa e endocardite mitral e aórtica. Linfadenite aguda cervical
108	7.572	M. L. F.	27-9-43	8 hs.	+	C. cadáverica	+	C. cadavérica	Osteomielite estafilococócica dos ossos da face. Tuberculose crônica do ápice do pulmão direito.
109	7.573	M. C. C.	27-8-43	7 hs.	+	C. cadavérica	+	C. cadavérica	Blastoma ulcerado do estômago. Atrofia parda do miocárdio. Caquexia.
110	7.577	A. P.	4-10-43	44 hs.	+	C. cadavérica	+	C. cadavérica	Tuberculose caseosa dos gânglios linfáticos. Periesplenite. Tuberculose caseosa. Caquexia.
111	4.879	M. C.	1-4-40	6 hs.	—		—		Tuberculose ulcerativa do lóbulo inferior do pulmão direito. Broncopneumonia de ambos os pulmões. Tuberculose miliar do fígado.
112	4.935	S. S.	22-6-40	22,30	+	St. aureus	+	St. aureus	Abcesso amebiano do fígado. Colite crônica ulcerativa.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
113	4.976	J. M. B.	27-8-40	22,30	+	N. gonorrheae		N. gonorrheae	Endocardite maligna da tricuspide mitral e aorta. Infarto dos pulmões. Esplenite aguda. Endocardite parietal do ventrículo direito.
114	4.884	S.T. A.	6-4-40	9 hs.	+	Est. viridans	—		Endocardite ulcerosa mitral e crônica fibrosa aórtica. Infarto do baço e rins esquerdo. Aneurisma da femural esquerda.
115	4.973	S. J. C.	20-8-40	5 hs.	+	Cont. cadavérica	+	Cont. cadavérica	Piopielonefrite. Cistite ulcerativa necrótica. Esplenite aguda. Endocardite crônica mitral. Caquexia.
116	4.979	S. J. C.	31-8 40	5 hs.	—				Endocardite crônica aórtica e mitral. Aortite sifilítica! Nefropatia crônica. Esplenite aguda.
117	4.977	M. F.	27-8 40	17 hs.					Malaria. Endocardite crônica aórtica e mitral. Pigmentação do fígado e baço.
118	4.985	E. I. M.	10 9-40	4 hs.	—				Trombose do ventrículo esquerdo e da aurícula direita. Infarto hemorrágico na base dos pulmões. Atrofia e fibrose do baço.
119	4.959	B. L. B.	10 8-40	16 hs.	+	Cont. cadavérica			Anemia, medula óssea rubra. Atrofia do baço. Ascaridiose. Edema sub cutâneo.
120	4.958	F. G.	7-8 40	17 hs.	+	Cont. cadavérica			Arterioesclerose. Atrofia e fibrose do baço. Fibrose do miocárdio. Pericardite aguda fibrinosa.
121	4.92	A. S.	30-6 40	26 hs.					Toxemia. Broncopneumonia do pulmão esquerdo. Esplenite aguda. Utero em involução com restos de placenta.
122	4.937	J. A. T.	25-6 40	7 hs.	—				Hemorragia das leptoeminges e dos ventriculos do encéfalo. Pneumonia lobar do pulmão esquerdo. Esplenite aguda.
123	4.931	E. C. J.	19-6-40	21 hs.	—				Nefrocirrose arterioesclerótica. Atrofia e fibrose do baço. Hemorragia no lóbulo superior do pulmão direito.
124	4.930	M. M. P.	18-6-40	4 hs.					Tuberculose miliar aguda dos dois pulmões. Esplenite crônica. Anemia. Ancilostomíase.
125	4.929	R. R. P.	18-6-40	6 hs.	—				Aneurisma da crossa da aorta. Ruptura do aneurisma. Fibrose do baço.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
126	4.925	M. L.	11-6-40	6,20 hs.	+	D. pneumoniae	+	D. pneumoniae	Pneumonia lobar do pulmão direito. Esplenite aguda. Icterícia. Cirrose biliar. Atrofia do coração.
127	4.924	U. R. R.	6-6-40	11 hs.	—				Infartos múltiplos e congestão crônica passiva dos rins Fibrose do miocárdio. Infartos múltiplos do baço.
128	4.918	A. A. D.	10 7-40	12 hs.	—				Pneumonia lobar dos lóbulos inferiores de ambos os pulmões. Esplenite aguda. Degeneração gordurosa do fígado.
12	4.903	M. V. S.	30-4-40	4 hs.	—				Aneurisma da crossa da aorta, Hipertrofia do ventrículo esquerdo. Congestão passiva do baço.
130	4.898	M. T. S.	27-4-40	16 hs.	—				Cirrose atrófica de Laenec. Esplenomegalia. Peritonite fibrinosa circunscrita.
131	3.890	O. D. S.	16-4-40	24 hs.	—				Tuberculose ulcerativa e nodular dos pulmões. Peritôneo e intestino. Esplenite aguda.
132	4.889	R. P.	13-4-40	23h s.	—				Tuberculose ulcerativa do lóbulo superior do pulmão direito. Tuberculose do baço. Anemia.
133	4.888	C. S.	11-4-40	4 hs.	—				Atrofia senil dos rins. Atrofia e fibrose do baço. Nefrocirrose arterioesclerótica.
134	4.878	M. C. S.	28-3-40	8 hs.	—				Carcinoma do pulmão direito com metastases no fígado, gânglios linfáticos e peritôneo.
135	4.866	M. F. R.	2-3-40	4 hs.	—				Tuberculose caseosa dos gânglios linfáticos traqueo-brônquicos. Tuberculose miliar do baço e fígado.
136	4.863	I. L. M.	29 2 40	9 hs.	—				Ulcerações múltiplas no pé esquerdo. Esplenite aguda. Arterioesclerose. Atrofia do baço.
137	4.859	M. A. C.	22-2-40	8 hs.	—				Tuberculose crônica do lóbulo superior do pulmão esquerdo. Atrofia e fibrose do baço. Atrofia e fibrose do baço. Atrofia parda do coração e fígado.
138	4.857	E. Q. S.	20-2-40	24 hs.	—				Aneurisma dissecante do tronco bráquio cefálico direito. Broncopnuemonia tuberculose de ambos os pulmões.

NÚMERO DE ORDEM	NÚMERO DO PROTOCOLO	NOME	DATA	TEMPO ENTRE A MORTE E A AUTOPSIA	CULTURA DO SANGUE DO CORAÇÃO	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	CULTURA DA POLPA ESPLÊNICA	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	PRINCIPAIS ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS
139	4.855	F. P. h.	10-5-40	23 hs.	+	Strepto. hemolitico	+	Strepto. hemolitico	Broncopneumonia do pulmão direito. Esplenite sub aguda. Aortite sifilitica. Hidroperitôneo. Endocardite crônica tricúspide.
140	4.854	Q. F. S.	15-2-40	22 hs.	+	C. cadáverica			Fibrose do miocárdio. Nefropatia crônica. Esclerose das coronárias. Atrofia e fibrose do baço.
141	4.843	W. B. F.	1-2-40	9 hs.	—				Colite aguda. Infiltração fgordurosa do fígado. Hiperemia do encéfalo.
142	4.842	S. F.	31-1-40	9,30 hs.	—				Empiema da cavidade pleural direita. Abcessos múltiplos no lóbulo inferior do pulmão direito. Esplenite aguda.
143	4.839	A. N.	24-1-40	6 hs.	—				Nefropatia crônica. Hemorragias no lobo inferior de ambos os pulmões e do baço. Adiposidade do miocárdio.
144	4.838	L. R. N.	24-1-40	8,30 hs.	—				Nefropatia crônica. Paquimeningite hemorrágica interna. Congestão crônica passiva do baço.
145	4.982	J. F. A.	5-9-40	24 hs.	+	Indeterminado	—		Malária. Esplenite águda e pigmentação do baço. Icterícia. Nefropatia aguda.

RESUMO E CONCLUSÕES

Praticamos exames bacteriológicos em 145 casos de autópsia, indistintamente.

A pesquisa foi feita no sangue do coração e na polpa esplênica.

As culturas foram positivas em 67 casos sendo que, dêstes, sòmente em 21 houve contaminação cadavérica. Nos outros, o germe que isolamos era o agente comprovado ou provável da infecção.

Sòmente para o caso do estafilococo (isolado de 9 casos) mantemos as nossas reservas.

Acreditamos que a presença de bactéria na polpa esplênica e no sangue, indique bacteriemia no momento da morte, de acôrdo com o que já observara Hunt e col. Nos nossos casos, tal fato esteve sempre ligado à presença de lesões anatômicas de origem bacteriana.

Quando sòmente a polpa esplênica revelou o germe admitimos bacteriemia passada, não existente no momento da morte.

Contaminação por contiguidade, quando só o sangue do coração revelou a presença de bactéria. Esta, quando isolada nos meios de cultura, esteve sempre de acôrdo com a lesão apresentada.

Sómente em quatro casos isolamos bacteria sem que os cadáveres apresentassem sinais de infecção.

Impressionou-nos o grande número de pesquisas negativas, mesmo em cadáveres de mais de 24 horas. Sòmente em 21 casos apresentou-se a contaminação cadavérica. Raras vêzes foi o germe isolado das lesões, sendo negativa a pesquisa no sangue do coração e polpa esplênica.

Além do interêsse que a pesquisa possa apresentar, achamos que os exames bacteriológicos em material colhido do cadáver poderá esclarecer o diagnóstico de muitas infecções que se mostrarem de origem obscura a que passarem desapercebidas. Nos nossos casos, na sua quase totalidade, atingimos êsse fim.

BACTERIOLIGICAL POST-MORTEM INVESTIGATIONS

Summary and conclusions

The A.A. made bacteriological investigations in 145 cases of autopsy. These investigations were carried out on the blood and spleen. The cultures were positive in 67 cases and in 21 of these there was body contamination.

In the other cases the isolated bacteria were the proved or probable cause of the disease. For the *Staphylococcus* alone (isolated in 9 cases) we cannot give a definite opinion.

We think that the presence of bacteria in the blood and in the spleem implies bacteriemia at the moment of death, according to the observations of Hunt and co-workers. In our cases such presence was related to that of anatomical lesions of bacterial origin.

When the bacteria were present only in the spleen we think that there had been bacteriemia, not present at the moment of the death.

We only observed the contamination by contiguity when the bacteria were present in the blood of the heart.

The isolated bacteria were always related to the presence of anatomical lesions. In only 4 cases was this not observed.

We were impressed by the great number of negative results even in bodies kept for more than 24 hours. In only 21 cases was body contamination present. In rare cases the bacteria were isolated from the lesions and not from the blood and spleen.

We think that apart from the interest of investigation, the bacteriological examinations in body material will be able to clear up the diagnosis of many obscure and unnoticed infections. In almost all our cases we obtained that result.

BIBLIOGRAFIA

ACHARD, CH & PHULPIN, E.

1895. Contribution à l'étude de l'envahissement des organes par les microbes pendant l'agonie et après la mort.
Arch. de Med. Exp. et Ant. Path. 7 : 25.

EPSTEIN, E. & KUGEL, M.

1929. The significance of postmortem bacteriological examination.
The Journ. of Inf. Dis. 44 : 327.

GIORDANO, A. & BARNES, A.

1922. Studies in Post-mortem bacteriology; value and importance of cultures made postmortem.
The J. of Lab. and Clin. Med. 7, 538.

GRADWOHL, B. H.

1904. Importance de l'examen bacteriologique sur les cadavres.
An. Inst. Pasteur. 18 : 767.

HUNT, H. & BARROW ET AL.

1929. A bacteriologic study of five hundred sixty seven post mortem examinations. The Jour. of Lab. and Clin. Med. 14 : 907.

LACORTE J. G. & SANTOS, M.

1944. Endocardites sépticas, Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 41, 101.

RICKEY, D. G. & GOEHRING, C.

1918. Studies on bacteriemias in the agonal period. The J. of Med. Res. 38, 421.

O aparelho muscular dos Proglotes de Taenia Saginata

por

Antonio Augusto Xavier e Jonio F. de Salles

(Com cinco figuras no texto)

A documentação histológica apresentada neste trabalho refere-se exclusivamente a proglotes de *Taenia saginata* eliminados espontâneamente, cada um dêles representando, como é óbvio, o último anel da cadeia constituindo o verme parasito.

Os proglotes foram fixados em formol a 10 p. 100 após 24 horas de permanência em baixa temperatura (ca. + 2.° C.). Antes de serem submetidos a essa temperatura os proglotes mediam 35 milímetros de comprimento, e de largura 5 milímetros. Depois de permanecerem no refrigerador por 24 horas ou mais tempo, mostram-se êles retraídos em todos os seus diâmetros, medindo então de 8 a 12 milímetros de comprimento por 3 milímetros de diâmetro transverso, em sua maior largura.

Depois de submetidos a baixa temperatura, como acima ja foi dito, os proglotes foram fixados em formol a 10 p. 100 durante 48 horas, sendo as peças depois transferidas para uma solução de formol a 4 p. 100 (solução conservadora), onde permaneceram por espaço de vários meses, para depois serem incluídas em parafina e cortadas. Para o estudo histológico foram utilizados os seguintes métodos de coloração: *a*) hematoxilina-eosina; *b*) azul de anilina de Mallory; *c*) tricrômico de Masson; *d*) impregnação pela prata segundo Bielschowsky; *e*) impregnação pela prata segundo o método de Foot-Wilder.

O aparelho muscular dos proglotes de *Taenia saginata* dispõe-se em duas camadas distintas, uma delas, a mais externa, orientando-se no sentido do longo eixo do proglote, é a camada de músculo longitudinal; a outra camada, mais interna e em contato com o chamado parênquima do corpo, forma um envoltório de proteção aos órgãos internos, dispostas as suas fibras em sentido transversal. Uma outra camada de músculo circular dispõe-se imediatamente

* Recebido para publicação a 11 de dezembro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Fig. 1 — Córte histológico de um proglote. As fibras musculares dispõem-se em duas camadas distintas: a camada muscular longitudinal e a camada de músculo transversal. Col. Hematoxilina-eosina × 20 — Microfoto *J. Pinto*.

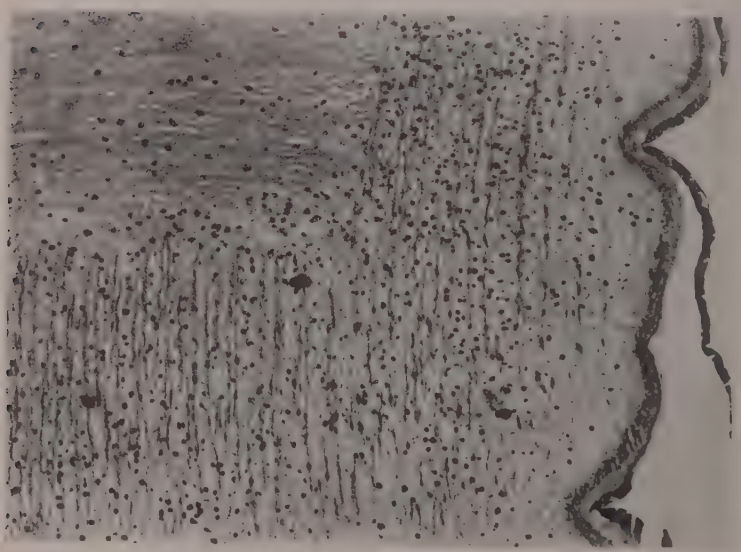


Fig. 2 — Vê-se nitidamente a disposição das fibras musculares em duas camadas distintas.
Col. Hematoxilina-eosina × 130 — Microfoto de *J. Pinto*.

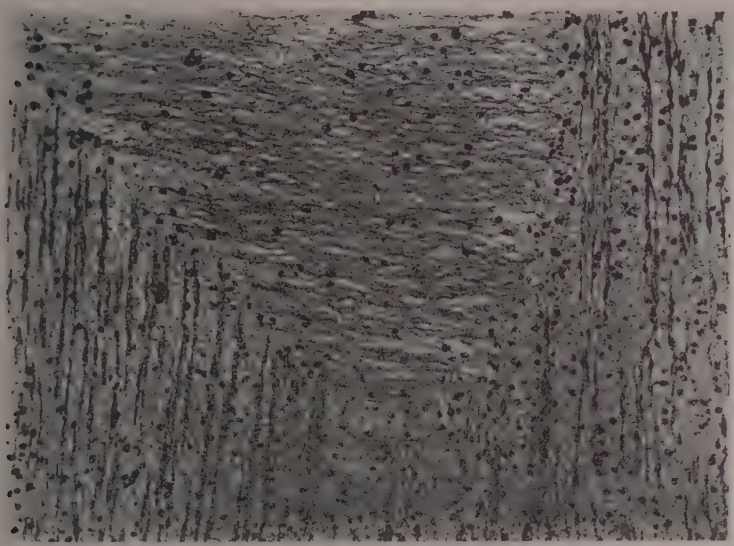


Fig. 3 — Fibras alongadas, possuindo nucléos pouco desenvolvidos excêntricos, dispostas longitudinalmente e fibras mais agrupadas, com núcleos pólidos, excêntricos dispostas transversalmente.
Col. Hematoxilina-eosina × 130 — Microfoto de *J. Pinto*.

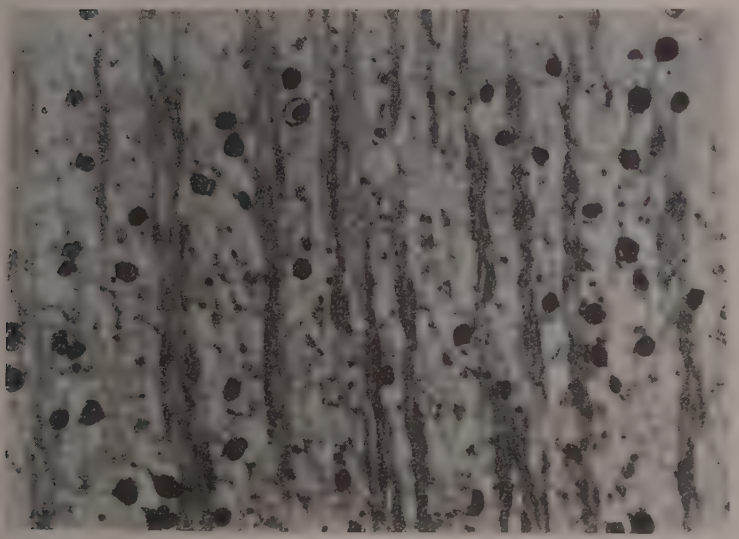


Fig. 4 — Entre as fibras musculares, vê-se o retículo de fibrilas e ovos da Tenia.

abaixo da cutícula. Devem ser assinaladas ainda as fibras dorso-ventrais unindo as paredes dorsal e ventral do corpo do proglote. Nossas preparações mostram tão sòmente o arranjo e a estrutura das fibras formando a camada muscular longitudinal e a camada de músculo transversal. As figuras 1, 2 e 3 demonstram a disposição das duas camadas musculares.

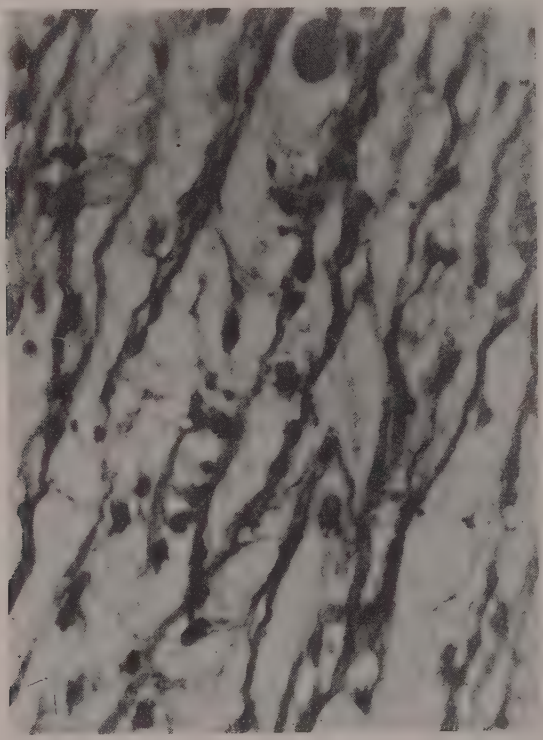


Fig. 5 — Fibras musculares dispostas em sentido longitudinal. Entre as fibras o fino retículo de fibrila impregnado pela prata, bem como, ovos do helminto e corpos calcáreos.
Col. Foot-Wilder × 950 — Microfoto de *J. Pinto*.

As preparações histológicas mostram fibras musculares lisas, alongadas, dispostas longitudinalmente, exibindo núcleos pouco desenvolvidos, pálidos, em geral excêntricos; outras mais finas, orientadas em sentido transversal, cujos núcleos são pequenos e também excêntricos. (Figs. 3, 4 e 5). Um caráter interessante dos núcleos é que êles são sempre simples e excêntricos.

As fibras musculares lisas apresentam-se sempre anastomozadas, só por exceção encontrando-se fibras isoladas. Êste arranjo estrutural é, se possível,

ainda mais aparente nas extremidades marginais do proglote e em relação com a cutícula que reveste todo o tubo muscular, onde as fibras longitudinais se anastomozam ainda mais densamente, lembrando o todo o aspecto de uma cremalheira.

Entre as fibras musculares e em plano mais profundo, nota-se um tecido areolar de malhas irregulares, formado por finas trabéculas, onde se distinguem numerosos núcleos redondos das células do parênquina. (Figs. 4 e 5). E' possível observa-se aí a presença de corpos calcáreos incluídos nas malhas do retículo. (Fig. 5).

THE MUSCULAR TEXTURE OF THE PROGLOTTIDES OF *TAENIA SAGINATA*

by

Antonio Augusto Xavier and Jonio F. de Salles

The writers describe the muscular texture of the proglottides of *Taenia saginata*, Goeze, 1782, based upon microscopical preparations of mature and gravid proglottides stained by several methods. The muscular system of the proglottides of *Taenia saginata* is disposed mainly in two layers, a longitudinal and external one, and a deeper transverse layer, lining the body parenchym and internal organs. A circular or annular layer ranging under the cuticle is also referred.

The writers emphasize the peculiar texture of the smooth muscle fibres, which only excepcionally do exist as isolated fibres, anastomosis between the fibres being the common histological appearence.

Special features of the body parenchym such as calcareous bodies and *globous nuclea* scattered in the parenchym are also described.

A transmissão de Plasmodium Gallinaceum pelo Aedes (Ochlerotatus) lepidus

por

W. Lobato Paraense

(Divisão de Estudos de Endemias)

Em trabalhos experimentais sôbre a malária, venho utilizando há cêrca de quatro anos uma colônia de *Aëdes* (*Stegomyia*) *aegypti* na transmissão do *Plasmodium gallinaceum*, parasito da galinha. Êsse mosquito, conforme ficou amplamente demonstrado por BRUMPT (1936a, 1936b), é ótimo transmissor da referida espécie de plasmódio, sendo capaz de se infestar em 100% dos casos, desde que seja alimentado em aves portadoras de gametócitos maduros. Nos casos favoráveis a infecção é maciça, podendo-se contar centenas e até mesmo além de mil oocistos na parede do estômago do mosquito. A partir do 10.º dia do repasto infetante, o inseto transmite fàcilmente a malária por picada. Pode-se mesmo afirmar que nenhuma espécie de plasmódio evolui tão favoràvelmente em um mosquito como o *P. gallinaceum* no *A. aegypti*, e que não há igual exemplo de tão fácil transmissão. Entretanto, a não ser que o experimentador disponha de instalações rigorosamente apropriadas à criação do *A. aegypti*, não é recomendável trabalhar com esta espécie em nosso meio, principalmente em cidades nas quais ela se acha extinta em conseqüência das campanhas contra a febre amarela. Êste foi o motivo por que, tendo sido incumbido pelo Diretor do Instituto Oswaldo Cruz de realizar pesquisas no Estado de Minas Gerais, e desejando ao mesmo tempo continuar estudos já iniciados sôbre a malária produzida pelo *P. gallinaceum*, procurei logo de início averiguar se existia, entre os elementos da fauna entomológica do referido Estado, alguma espécie de mosquito capaz de substituir o *A. aegypti* na transmissão daquela malária.

Aproveitando a boa vontade do Serviço Nacional de Febre Amarela, Circunscrição de Belo Horizonte, a êsse tempo dirigida pelo Dr. Otávio Pinto Severo, solicitei que me fôssem fornecidos exemplares de mosquitos capturados durante as inspeções realizadas por êsse Serviço na cidade de Belo Horizonte, a fim de fazer experiências de transmissão no laboratório.

* Recebido para publicação a 19 de dezembro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Foi assim que, por gentileza daquele distinto colega e amigo, recebi em novembro de 1943 cêrca de 25 larvas de um mosquito não determinado, as quais tinham sido colhidas em vários focos existentes em cavidades de pedra. A partir destas larvas iniciei a criação dêsse mosquito, que se comportou como espécie estenogâmica, reproduzindo-se em cativeiro com certa facilidade. Pelos caracteres dos alados verifiquei tratar-se de um *Aëdes*, não conseguindo entretanto determinar-lhe a espécie. Êste mosquito copulava de maneira semelhante ao *A. aegypti* e depositava ovos isolados, dos quais eclodiam larvas no terceiro dia após a postura, em temperatura variável entre 26-28°C. Submetendo os ovos à dessecação no ambiente do laboratório, êles ainda produziam larvas até 20 dias depois da postura, não tendo sido feitas experiências além dêste prazo.

As larvas eram criadas em tigelas contendo água potavel e alimentadas com fermento Fleischmann e farinha de pão sêco. Mantidos os criadouros a 26-28°, a evolução até adulto decorria em 10 dias, a contar da saída da larva.

Os imagos eram mantidos em gaiolas teladas ou envidraçadas medindo 35 x 25 x 25 cm. Introduzindo-se o braço nas gaiolas de criação, as fêmeas picavam com pouca freqüência, parecendo que não sugavam até completa repleção. Isoladas individualmente em tubos de Borrel, também se recusavam freqüentemente a picar. Grande número de exemplares morria sem fazer ao menos um repasto de sangue. Em conseqüência desta dificuldade em tomarem alimento sanguíneo, as posturas eram escassas e pequena a quantidade de ovos depositados.

As experiências de transmissão foram feitas em dois grupos dêste mosquito.

O primeiro grupo era composto de pequenos lotes, alimentados em galinhas, sempre intensamente infetadas e portadoras de grande número de gametócitos maduros. Antes da alimentação infetante era pesquisada a capacidade de exflagelação dos microgametócitos, em preparado a fresco examinado à temperatura ambiente. Os mosquitos só eram alimentados quando a formação de microgametas atingia um índice elevado. Depois eram colocados em ambiente saturado de umidade e aquecidos a 26-28°, e daí em diante alimentados com mel.

A partir de cinco dias após a alimentação sanguínea eram examinados os estômagos e as glândulas salivares, constatando-se a infecção de todos os exemplares examinados dêste grupo, em número de 50. Mesmo nos casos mais favoráveis, não consegui observar além de 56 oocistos nas paredes do estômago. A partir do 8.° dia, em alguns casos, e comumente depois do 10.° dia, apareceram os esporozítas nas glândulas salivares, sempre em grande abun-

dância. Com êstes elementos consegui, em tôdas as aves inoculadas, a produção da malária em pintos e frangos, tanto por meio da picada dos mosquitos como pela inoculação subcutânea de triturados das glândulas salivares. Nas aves a infecção evoluiu semelhantemente àquela transmitida pelo *A. aegypti*, com índice de mortalidade equivalente e com aparecimento tanto dos parasitos sanguíneos como das formas exoeritrocitárias.

O segundo grupo de mosquitos experimentados foi dividido em lotes que sugaram sangue de galinhas portadoras de infecção moderada, com pequeno número de gametócitos maduros e poucas formas exflagelantes evidenciadas pelo exame direto. Os mosquitos dêste grupo foram tratados de maneira idêntica ao grupo anterior, tendo sido constatada a infecção de 28 exemplares entre 50 examinados, permanecendo os 22 restantes negativos.

Depois de várias tentativas infrutíferas no sentido de classificar o *Aëdes* em questão, utilizando os meus próprios conhecimentos, enviei alguns espécimes adultos ao meu amigo Nelson L. Cerqueira, entomologista do Serviço de Estudos e Pesquisas sôbre a Febre Amarela, que constatou tratar-se de uma nova espécie. Para esta foi proposta a denominação *Aëdes* (*Ochlerotatus*) *lepidus*, em publicação destas *Memórias*.

Consegui manter esta espécie no laboratório até à 6.ª geração. Infelizmente, ao regressar de uma excursão de estudos, encontrei mortos quase todos os espécimes em criação, só restando viva uma fêmea que depois também morreu sem ter chegado a desovar. A êsse tempo a estação sêca e fria impossibilitou o reencontro de novos focos dêste mosquito em Belo Horizonte, porém na ocasião oportuna êles serão procurados. Será possível então fazer um estudo detalhado de suas características biológicas e completar as observações sôbre a sua morfologia com a descrição de tôdas as formas evolutivas.

SUMÁRIO

Foi pesquisada a capacidade transmissora do *Aëdes* (*O.*) *lepidus* em relação ao *Plasmodium gallinaceum*. Êste mosquito comportou-se como ótimo vector, apresentando elevado índice oocístico e esporozoítico e produzindo a malária por picada em animais sensíveis (pintos e frangos).

SUMMARY

The observations reported in this paper indicate that the recently describeb *Aëdes* (*O.*) *lepidus* is a very good vector of *Plasmodium gallinaceum*, transmitting the malarial infection to chicks of varying ages.

REFERÊNCIAS

Brumpt, E.

1936a. Récéptivité de divers oiseaux domestiques et sauvages au parasite (*Plasmodium gallinaceum*) du paludisme de la poule domestique.. Transmission de cet hématozoaire par le moustique *Stegomyia fasciata*. *C. Rend. Acad. Sc.* 203 (16): 750-752.

1936b. Étude expérimentale du *Plasmodium gallinaceum* parasite de la poule domestique. Transmission de ce germe par *Stegomyia fasciata* et *Stefomyia albopicta*. *Ann. Parasit. Hum. Comp.* 14 (6) : 597-620.

Cerqueira, N. L. & W. L. Paraense

1945. Uma nova espécie de *Aëdes*, transmissora de *P. gallinaceum*. *Mem. Inst. O. Cruz*, a sair neste fasciculo de Fevereiro de 1945.

Os Tricodectideos dos Roedores
(Mallophaga)

por

Fabio Leoni Werneck

(Com 68 figuras no texto)

Em proseguimento as nossas publicações sôbre malófagos de mamíferos, passamos a expor quanto nos foi possível apurar sôbre os que, pertencentes a família *Trichodectidae*, se encontram em roedores.

Dividem-se tais parasitos em dois gêneros nìtidamente distintos — *Geomydoecus* e *Eutrichophilus* — peculiares a duas famílias de roedores — respectivamente: *Geomyidae* e *Erethizontidae* — ambas livres de giropideos, seja dos malófagos que mais freqüentemente infestam os hospedadores desta ordem. As espécies do primeiro gênero são afins aos tricodectideos dos carnívoros e as do segundo se relacionam aos malófagos dos ungulados.

Nestas condições, quem se restringir ao estudo dos tricodectídeos dos roedores não encontrará motivos para discordar de sua distribuição nos referidos gêneros. O mesmo, porém, não sucederá aos que considerarem os demais membros da mesma família, cuja divisão genêrica constitui difícil e debatido problema de sistemática.

No momento não desejamos abordar esta questão, da qual nos ocuparemos futuramente. Cumpre-nos, todavia, fazer algumas considerações sôbre os gêneros em apreço.

Geomydoecus nos parece incontestàvelmente um bom gênero — homogêneo e inconfundível com qualquer outro até hoje proposto, embora definido por caracteres aparentemente de pouco valor. Nenhuma de suas espécies pode suscitar dúvidas quanto sua posição gênerica, assim como nem uma só de suas particularidades características se encontra noutro tricodectídeo. A julgar pelo que nos foi dado observar, é de crer que comporte grande número de espécies estreitamente relacionadas e inseparáveis pelos meios usuais de estudo, mas provàvelmente reconhecíveis com auxílio de dados biométricos precisos.

Suspeitamos, com efeito, da existência de, pelo menos, mais duas espécies não referidas entre as que serão adiante estudadas. Ambas seriam total-

* Recebido para publicação a 26 de dezembro de 1944 e dado à publicidade em fevereiro de 1945.

mente destituídas de saliência no primeiro artículo antenal do macho e se distinguiriam das espécies próximas, destituídas também da referida saliência (*Geomydoecus texanus* e *Geomydoecus expansus*), por pequenas diferenças na forma da cabeça. Infelizmente, o mau estado de conservação e a escassez do material a nossa disposição não nos permitiu obter os elementos de convicção necessários para descrevê-las como novas. Provàvelmente o emprêgo de técnica mais apurada virá um dia contribuir para melhor conhecimento dêstes parasitos e elucidar questões, um tanto estranhas, relativas a distribuição geográfica de determinadas espécies.

Ao contrário do que ocorre em *Geomydoecus*, *Eutrichophilus* é um gênero pouco homogêneo, sem nenhum caráter que lhe seja exclusivo. Suas espécies se reconhecem por uma série de particularidades nem sempre constantes e as vêzes existentes, embora menos acentuadas, noutros tricodectideos. Devemos confessar que hesitaríamos quanto a posição genêrica de certas espécies se ignorássemos seus hospedadores.

Como exemplo citaremos *Eutrichophilus moojeni*, nova espécie adiante descrita, muito mais parecido a *Damalinia conectens* de um antilope africano que à espécie tipo do gênero *Eutrichophilus*. Entretanto, não é descàbido associá-lo aos demais *Eutrichophilus*, tanto pela presença de determinados caracteres comuns quanto pela existência de uma verdadeira forma de transição (*Eutrichophilus maximus*), ligando-o as espécies típicas do mesmo gênero.

Pelas razões acima expostas, consideramos o gênero *Eutrichophilus* um agrupamento algo artificial de espécies nem sempre semelhantes. E só o aceitamos pela convicção de ser impossível uma divisão gnêrica satisfatoria da família *Trichodectidae*.

Muitos foram os que nos auxiliaram no presente trabalho, proporcionando-nos material de estudo. Entre êles cumpre citar os Drs. H. E. Ewing, E. A. Chapin, J. Moojen de Oliveira, G. F. Ferris e G. H. E. Hopkins. A todos desejamos testemunhar nosso mais sincero reconhecimento, ao iniciar a descrição dos parasitos com os quais devemos nos ocupar.

Gênero **Geomydoecus** Ewing

1929 — *Geomydoecus*, Ewing, *Manual of External Parasites*, págs. 193-194.
1936 — *Geomydoecus*, Ewing, *Journal of Parasitology*, vol. 22, págs. 240.

DIAGNOSE:

Espécies com os caracteres gerais da família Trichodectidae e mais as seguintes particularidades.

Cabeça larga, com a porção préantenal limitada por duas margens anterolaterais de curvatura mais ou menos acentuada, tendo entre as extremidades anteriores uma reentrância de tamanho variável. Ao longo destas margens há, sempre, uma faixa pigmentada que se dilata para constituir, com a formação idêntica do lado oposto, uma placa escutiforme, de limites imprecisos, junto a reentrância anterior da cabeça. Témporas fortemente projetadas para fora e para tras; no macho sempre mais curtas que na fêmea, porque, ao contrário do que sucede noutros gêneros, o aumento das fossas de implantação das antenas nos indivíduos dêste sexo se processa em detrimento da região postantenal da cabeça.

Escleritos faringeus presentes.

Antenas formadas por três artículos e com acentuado dimorfismo sexual: as do macho grandes, fortes, encurvadas e com o primeiro artículo consideràvelmente mais desenvolvido que os demais, as da femea, menores, mais delgadas e flexíveis. Nos dois últimos segmentos antenais da fêmea há uma formação tuberculiforme, de tamanho variável, porém, constantemente maior no segundo artículo. Na margem posterior do primeiro artículo antenal do macho, pode ou não haver uma saliência tegumentar da mesma natureza. Estas formações são características e exclusivas ao gênero *Geomydoecus*.

Torax curto e largo, aparentemente formado por dois únicos segmentos; sem dimorfismo sexual. Membros normais, com dois esporões opostos aos tarsos.

Abdome largo, membranoso, sem zonas de quitinização ou pigmentação intensas, das quais só se encontram alguns vestígios nos pleuritos anteriores. Uma só fila de cerdas nos tergitos e esternitos típicos.

Estigmas respiratórios abdominais ausentes.

Gonopofises sem lóbulos e sem cerdas no bordo interno, tôdas aproximadamente iguais. O número e comprimento das cerdas da região genital da fêmea varia nas diversas espécies, mas seu modo de implantação é aproximadamente o mesmo. Evidentemente relacionado ao aparelho genital da fêmea, encontra-se no interior do abdome um grande saco de paredes pregueadas.

Aparelho copulador do macho constituído por placa basal, endômeros reunidos em placa escutiforme e pseudopênis. Parâmeros ausentes.

Espécies parasitas habituais de geomiídeos.

ESPÉCIE TIPO: *Geomydoecus geomydis* (Osborn)

Geomydoecus geomydis (Osborn)

1891 — *Trichodectes geomydis*, Osborn, Bul. 7, Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, págs. 54, fig. 42.

1896 — *Trichodectes geomydis*, Osborn, But. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, págs. 239, fig. 146.

1900 — *Trichodectes geomydis* Kellogg, Proceedings of the U. S. National Museum, vol. 22, págs. 68.

1903 — *Trichodectes geomydis*, Morse, American Naturalist, vol. 37, págs. 619, fig.

1908 — *Trichodectes geomydis*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, págs. 7.

1912 — *Trichodectes geomydis*, Paine, Entomological News, vol. 23, págs. 437.

1913 — *Trichodectes geomydis*, Stobbe, Sitzungsberichte der Gessellschaft Naturforschender Freunde, págs. 370, fig. 1.

1914 — *Trichodectes geomydis*, Kellogg, American Naturalist, vol. 48, págs. 273.

1916 — *Trichodectes geomydis*, Harrison, Parasitology, vol. 9, págs. 70 (pro parte)

1916 — *Trichodectes geomydis*, Ferris, Psyche, vol. 23, págs. 99.

1929 — *Geomydoecus geomydis*, Ewing, Manual of External Parasites, págs. 194.

1936 — *Geomydoecus geomydis*, Ewing, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 241.

1938 — *Geomydoecus geomydis*, Kéler, Nova Acta Leopoldina, n. s., vol. 5, n.° 32 págs. 463.

1941 — *Geomydoecus geomydis*, Gerberg & Goble, Journal of Mammalogy, vol. 22, n.° 4, págs. 454.

Hospedador tipo: *Geomys bursarius* (Shaw), de Ames, Iowa, Estados Unidos.

Hospedadores outros:

A presença de *Geomydoecus geomydis* foi assinalada em muitos hospedadores:

a) — *Thomomys* sp., da região ocidental dos Estados Unidos, por Osborn em 1891.

b) — *Thomomys bottae* ssp., da California, Estados Unidos, por Osborn em 1896.

c) — *Thomomys bottae laticeps* Baird, da Califórnia, Estados Unidos, por Kellogg & Ferris em 1915.

d) — *Thomomys monticola* ssp., de Yosemite National Park, Califórnia, Estados Unidos, por Ferris em 1916.

e) — *Thomomys bulbivorus* Richardson, de Monterey, Califórnia, Estados Unidos, por Paine em 1912.

f) — *Geomys cumberlandius* Bangs, das Ilhas Cumberland, Geórgia, Estados Unidos, por Ferris em 1916.

g) — *Macrogeomys heterodus* Peters, de Irazú, Costa Rica, por Stobbe em 1913.

h) — *Echinosciurus rigidus* Peters, de Irazú, Costa Rica, por STOBBE em 1913.

i) — "Ground squirrel", de Santa Rosa, Califórnia, Estados Unidos, por PAINE em 1912.

j) — *Leptonycteris nivalis* Saus, de Nuevo Leon, México, por Gerberg & Goble, em 1941.

Todavia, deve-se notar que, na época em que tais encontros foram registados, nenhum dos referidos autores tinha a possibilidade de distinguir as hoje bem conhecidas espécies do gênero *Geomydoecus*. Nestas condições não devem ser êles aceitos sem ulterior confirmação.

E' de supor, também, que as verificações do parasito em ciurídeos e morcegos representem, apenas, contaminações puramente acidentais.

De acôrdo com a relação do material por nós examinado, deve-se acrescentar a lista de hospedadores: *Geomys bursarius illinoensis* KOMAREK & SPENCER, *Geomys lutescens* MERRIAM, *Geomys breviceps breviceps* BAIRD e *Thomomys bottae bottae* EYDOUX & GERVAIS.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Dois machos e dois jovens, colhidos em *Geomys bursarius*, de Ames, Iowa, Estados Unidos, numa lâmina pertencente ao U. S. National Museum.

— Duas fêmeas, um macho e um jovem, colhidos em *Geomys bursarius*, de Manhattam, Kansas, Estados Unidos, numa lâmina da coleção Osborn e que, presentemente, se encontra no U. S. National Museum.

— Uma fêmea, um macho e um jovem, colhidos em *Geomys bursarius illinoensis*, de Momenca, Illinois, Estados Unidos, numa lâmina do U. S. National Museum.

— Seis fêmeas, três machos e cinco jovens, colhidos em dois espécimes de *Geomys lutescens*, de Saronville, Nebraska, Estados Unidos, em quatro lâminas do U. S. National Museum.

— Quatro fêmeas, quatro machos e quatro jovens, colhidos em *Geomys breviceps breviceps*, de Kirbyville, Texas, Estados Unidos, em cinco lâminas da coleção Bedford e vários espécimes colhidos noutro exemplar de *Geomys breviceps breviceps* da mesma localidade, gentilmente enviados em álcool por G. H. E. Hopkins.

— Um macho e dois jovens, colhidos em *Geomys breviceps* ssp., de College Station, Texas, Estados Unidos, numa lâmina pertencente ao U. S. National Museum.

— Uma fêmea e três machos, colhidos em *Thomomys bottae bottae*, de San Simeon, California, Estados Unidos, numa lâmina pertencente ao U. S. National Museum. Examinamos espécimes de *Geomydoecus californicus* colhidos no mesmo hospedador e localidade. Êstes, porém, não foram encontrados de mistura com os de *Geomydoecus geomydis* ora referidos, tendo sido encontrados em animais capturados noutras datas.

— Duas fêmeas e um macho, colhidos em "Pocket Gopher", de Corvallis, Oregon, Estados Unidos, por Flint em 23-III-1912, numa lâmina que nos foi amàvelmente enviada por Dr. H. E. Ewing.

Fig. 1
Geomydoecus geomydis, fêmea

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 1). Comprimento: 1.16 mm.

Cabeça (fig. 3) muito mais larga do que longa, com profunda reentrância na extremidade anterior, margens anterolaterais fortemente divergentes, margens temporais arredon-

dadas e bordo occipital reto. Região préantenal com cêrca de metade do comprimento da cabeça e a postantenal com pouco mais de um têrço. Têmporas salientes para fora e para trás.

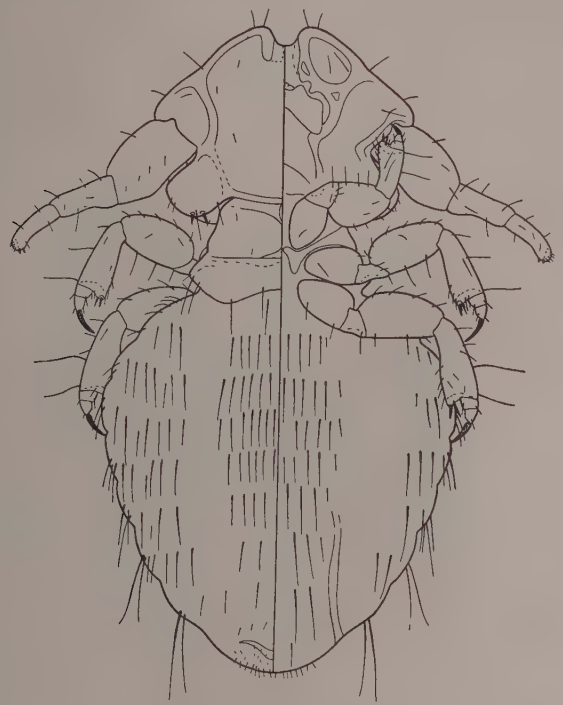


Fig. 2
Geomydoccus geomydis, macho

Além das faixas periféricas de tegumento espessado, de coloração particularmente intensa nas margens anterolaterais e na occipital, há, de cada lado da face superior da cabeça,

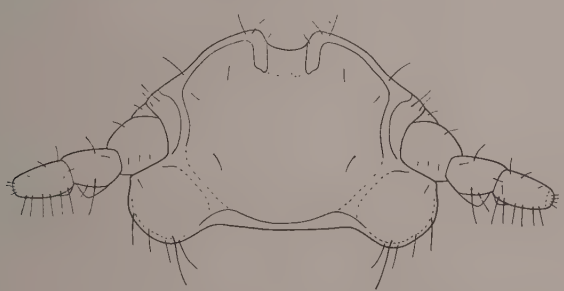


Fig. 3
Geomydoecus geomydis, cabeça da fêmea

duas outras, que se tocam ao nível do ângulo posterior das fossas de implantação das antenas e ligam as extremidades posteriores das faixas marginais da região préantenal as extre-

midades da existente ao longo do bordo occipital. A primeira delas é curva, com a concavidade voltada para as fossas antenais; a segunda, reta, inclinada para dentro, marca o limite interno das regiões temporais. Na face inferior, o espessamento do tegumento se apre-

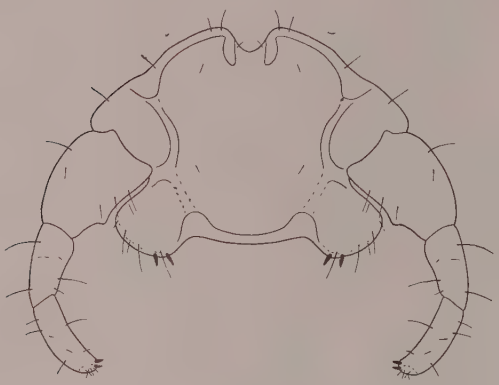


Fig. 4
Geomydoecus geomydis, cabeça do macho

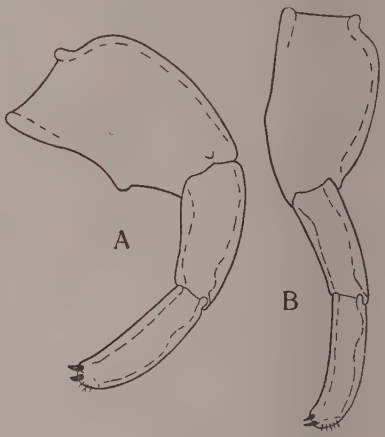


Fig. 5
Geomydoecus geomydis, antenas do macho

senta com o aspecto habitual, deixando livres duas grandes áreas ovais entre a goteira destinada aos pelos do hospedador e as margens anterolaterais da cabeça. Em ambas as faces, como em tôda a periferia, se encontram algumas cerdas que não merecem especial referência, a não ser a penúltima das margens temporais, excepcionalmente longa.

Fig. 6
Geomydoecus geomydis, região genital da fêmea

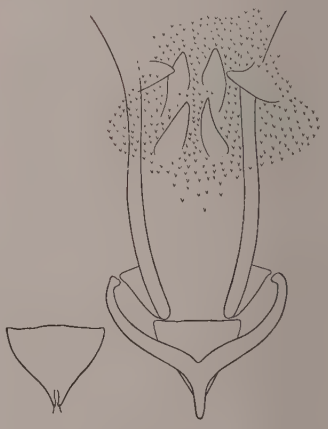


Fig. 7
Geomydoecus geomydis, aparelho copulador macho

Antenas tendo de comprimento cerca de metade da largura da cabeça, robustas, com três artículos aproximadamente do mesmo comprimento; o primeiro, porém, mais grosso que

os outros. Segundo e terceiro artículos com os tubérculos antenais característicos das espécies do gênero *Geomydoecus,* sendo o do último artículo consideràvelmente menor que o existente no segundo segmento.

Olhos ausentes.

Torax mais curto e estreito que a cabeça, com o segmento anterior trapezoidal, de margens laterais divergentes, e o posterior irregular, tendo os angulos laterais fortemente sali-

Fig. 8
Geomydoecus geomydis, aparelho copulador macho

entes e o têrço médio da margem distal reentrante. Alguns pelos na borda posterior do protorax e uma série regular de longas cerdas no metatorax. Na face inferior do torax, nada há de particular a ser assinalado.

Membros do tipo normal; os do primeiro par ligeiramente menores que os outros. Todos com dois fortes espinhos na extremidade distal da tíbia oposta aos tarsos.

Abdome completamente despigmentado, oval, muito largo, tendo de largura máxima quase tanto quanto de comprimento. Tergitos, pleuritos e esternitos dos segmentos típicos guarnecidos de uma fila regular de cerdas, particularmente longas na região mediana ou junto as margens abdominais.

Região genital (fig. 6). Gonopofises de tamanho médio, constituidas por delgada lâmina de quitina dificilmente visível, limitada por um bordo externo, encurvado e espessado, que se prolonga pela face inferior do abdome. Na extremidade da margem interna dêstes apêndices, há duas ou três cerdas curtas. Entre as gonopófises se estende uma mancha pigmentada, formando, em seu têrço médio, um ângulo de grande abertura com o vértice na linha mediana e cujas extremidades laterais se encurvam para fora e para trás. As cerdas da região genital se reunem em dois grupos alongados longitudinalmente, um de cada lado da linha mediana.

Macho (fig. 2). Comprimento : 1.23 mm.

Difere da fêmea na forma da cabeça e das antenas e por ligeiras particularidades de quetotaxia fàcilmente perceptíveis no confronto dos desenhos ora publicados.

Cabeça (fig. 4) com fossas de implantação das antenas consideràvelmente maiores, do que resulta acentuado encurtamento da região postantenal e das têmporas, em cujas extremidades posteriores se encontram dois pares de pequenos espinhos.

Antenas grandes, fortes, constituídas por três artículos de forma diferente, dos quais o primeiro é muito mais grosso que os demais. O comprimento dos artículos antenais decresce ligeiramente de diante para trás. Na margem interna do primeiro segmento há pequena saliencia (fig. 5-a) que desaparece quando a antena se encontra bem distendida (fig. 5-b).

Aparelho copulador (figs. 7 e 8) formado por placa basal de margens laterais paralelas ou fortemente convergentes, de placa endomeral escutiforme e de pseudopênis em forma de Y. Na vesícula, além de uma infinidade de espinhos pequenos que revestem tôda sua superfície, há alguns espinhos maiores nas proximidades da extremidade livre.

A maior ou menor convergência dos bordos laterais da placa basal, nos parece depender de afastamento mais ou menos acentuado dos ramos em que provàvelmente se divide a metade anterior da referida placa. Acreditamos que a remoção das partes moles, nos espécimes tratados por um alcali forte, favoreça o afastamento em questão, só o tendo observado em tais casos.

NOTA:

Parece-nos que a determinação do parasito ora em estudo, não comporta maiores dúvidas, pois se baseia tanto em espécimes colhidos no hospedador e localidade tipos como em material da coleção Osborn.

Não nos é possível, com o escasso material disponível, estabelecer a distribuição geográfica de *Geomydoecus geomydis*. Contudo, acreditamos ser, das espécies do gênero, a mais freqüente na região central dos Estados Unidos (Iowa, Illinois, Nebraska, Kansas, Texas). Todavia, no material examinado, encontramos exemplares, morfologicamente, idênticos aos do "middle west", provenientes da costa do Pacífico (Califórnia, Oregon), o que confereria ao parasito mais vasta zona de distribuição. Se assim fôr, pode-se afirmar com absoluta certeza que *Geomydoecus geomydis* não é a espécie dominante no "far west" americano, pelo menos na Califórnia, onde predomina a que será estudada em seguida.

Geomydoecus californicus (CHAPMAN)

1897 — *Trichodectes californicus*, CHAPMAN, Entomological News, vol. 8, págs. 186-187, fig.

1900 — *Trichodectes californicus*, KELLOGG, Proceedings of the U. S. National Museum, volume 22, págs. 68.

1903 — *Trichodectes californicus*, MORSE, American Naturalist, vol. 37, págs. 619-620, fig.

1908 — *Trichodectes californicus*, KELLOGG, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, págs. 6.

1912 — *Trichodectes californicus*, PAINE, Entomological News, vol. 23, págs. 440, pl. 20, fig. 2.

1914 — *Trichodectes californicus*, KELLOGG, American Naturalist, vol. 48, págs. 273.

1915 — *Trichodectes geomydis,* KELLOGG, & FERRIS, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, págs. 60, pl. 8, figs. 1, 3, 6. (nec Osborn).
1916 — *Trichodectes geomydis,* HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 70 (pro parte)
1936 — *Geomydoecus californicus,* EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 241.

HOSPEDADOR TIPO: *Perognathus* sp., da Baixa Califórnia, México.

HOSPEDADORES OUTROS:

Encontrado por PAINE em *Dipodomys merriami* ssp., do Arizona, Estados Unidos. Com o nome de *Trichodectes geomydis,* a espécie em estudo foi assinalada por KELLOGG & FERRIS em *Thomomys bottae laticeps* Baird e *Thomomys* sp. da California, Estados Unidos. De acôrdo com a lista do material por nós examinado, deve-se admitir sua ocorrência em *Thomomys bottae bottae* EYDOUX & GERVAIS, *Thomomys perpallidus chrysonotus* GRINNELL, *Geomys arenarius* MERRIAM e, talvez, em *Perognathus penicilatus angustirostris* OSGOOD.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

Considerável número de exemplares de ambos os sexos, todos provenientes dos Estados Unidos, encontrados em:

Thomomys bottae bottae da California (San Simeon, Santa Lucia, Berkeley).

Thomomys bottae ssp. de diversas localidades da California (Friant, Los Angeles, Colorado Desert, Pizmo, Sunol, Palo Alto, Los Altos).

Thomomys perpallidus chrysonotus de Yuma, Arizona.

Thomomys sp. de Yarnell e Lukachukai, Arizona.

Geomys arenarius de El Passo e Fort Haucock, Texas.

Geomys sp. de Woodward (Oklahoma), Canon City e Aurora (Colorado).

"Pocket Gopher" de Rush Valley (Utah), Santa Rosa, San Simeon, Dril's Peak (California) e Wickemburg (Arizona).

Perognathus penicilatus angustirostris de Dos Palmos, Califórnia (apenas um macho, numa lâmina do U. S. National Museum).

Além do material acima referido, examinamos alguns espécimes que, evidentemente, representam meras contaminações acidentais:

Dois machos colhidos em *Peromyscus maniculatus rufinus* (Merriam), de Mongollon Mts., New México, por H. S. Gentry (30-VIII-1933), numa lâmina do U. S. National Museum.

Uma fêmea, dois machos e um jovem, colhidos em *Microtus* sp., de Aurora, Colorado, por R. L. Boke (10-V-1931), numa lâmina do U. S. National Museum. Há, no referido museu, outra lâmina com duas fêmeas e dois machos de *Geomydoecus californicus* colhidos em *Geomys* sp., no mesmo dia, na mesma localidade e pelo mesmo colecionador.

Uma fêmea, dois machos e um jovem, colhidos em *Sylvilagus floridanus similis* Nelson, de Morrison, Colorado, por E. V. Komarek (29-III-1931), numa lâmina do U. S. National Museum.

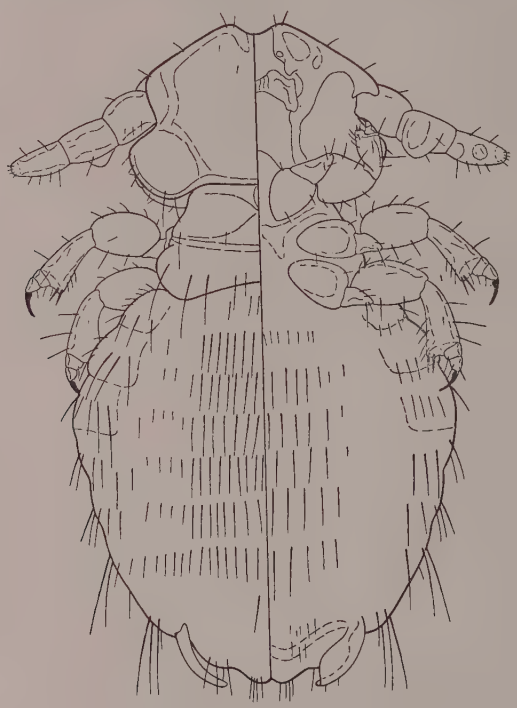


Fig. 9
Geomydoecus californicus, fêmea

Duas fêmeas, um macho e um jovem, colhidos em *Scapanus latimanus latimanus* (Bachman), de Santa Lúcia, Califórnia, por R. L. Bocke (20-VII-1931), numa lâmina do U. S. National Museum. Na mesma coleção há dois lotes de *Geomydoecus californicus*, colhidos em *Thomomys bottae bottae* na mesma localidade e pelo mesmo colecionador. Um dêles não tem data assinalada; o outro traz a de 25-VI-1931.

Via de regra deixamos de mencionar o nome dos mamíferos onde casualmente foram encontrados exemplares do parasito em estudo, evitando, assim, que os mesmos sejam indevidamente incluídos nas listas de hospedadores.

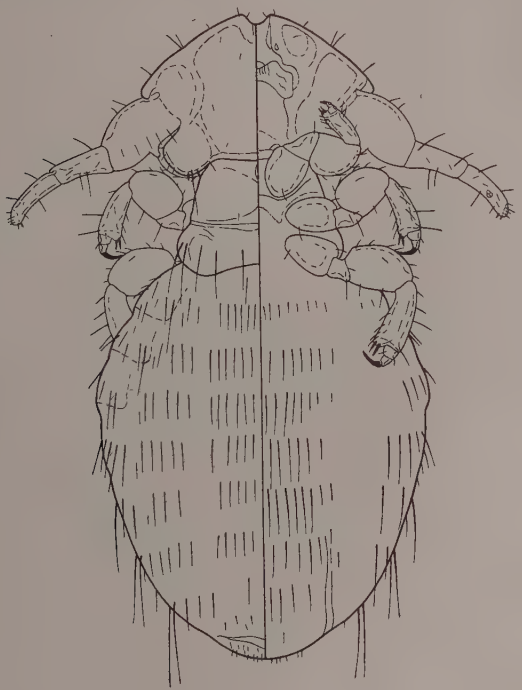


Fig. 10
Geomydoecus californicus, macho

Considerando, porém, que o material acima pertence a coleção do U. S. National Museum e que não faltará quem, influenciado pelo nome dos hospeda-

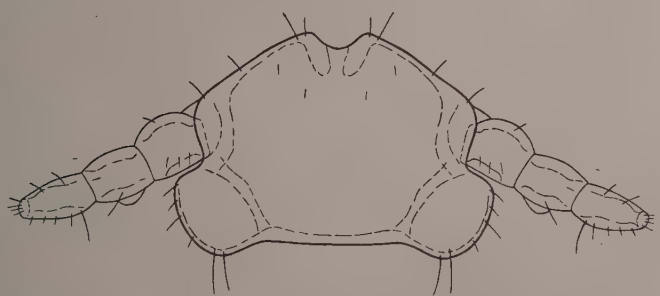


Fig. 11
Geomydoecus californicus, cabeça da fêmea

dores, dêle se sirva para a descrição de uma ou mais espécies, julgamos, no caso presente, mais acertado registar nossa opinião a seu respeito.

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 9). Comprimento: 1.30 mm.

Pràticamente igual a de *Geomydoecus geomydis*, inclusive na fórma da cabeça (fig. 11) e no aspecto da região genital (fig. 14).

Macho (fig 10). Comprimento 1.44 mm.

O macho de *Geomydoecus californicus* se distingue do de *Geomydoecus geomydis* exclusivamente pelo tamanho e forma da saliência existente na margem posterior do primeiro artículo antenal, maior, mais acentuado e persistente ainda quando as antenas se encontram bem distendidas (figs. 13-a e 13-b).

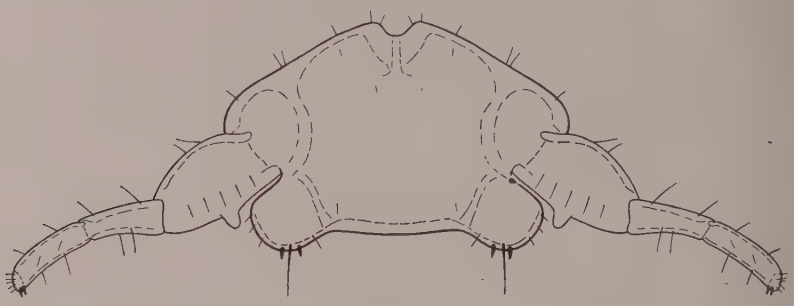


Fig. 12
Geomydoecus californicus, cabeça do macho

NOTA:

Tendo sido *Geomydoecus californicus* descrito de uma única fêmea é impossível afirmar que seja, efetivamente, a espécie a qual atribuímos o mesmo nome, porque fêmeas idênticas podem pertencer a espécies distintas, reconhecíveis pelos machos. Uma redescrição de *Geomydoecus californicus* deveria ter por base exemplares colhidos no hospedador e localidade tipos, cujas fêmeas fôssem idênticas ao espécime descrito por Chapman. Até hoje, nenhum autor teve a sua disposição material que satisfizesse tais requesitos.

Deve-se a PAINE a primeira redescrição de *Geomydoecus californicus*, de material colhido em *Dipodomys merriami* do Arizona, identificado, com alguma hesitação, pelo referido autor a espécie de Chapman. Como diferença entre seus espécimes e *Geomydoecus californicus*, PAINE assinalou redução no número das cerdas abdominais e, sobretudo, das metatorácicas. Ignoramos se esta diferença foi verificada na comparação de espécimes ou deduzida do de-

zenho e descrição publicados por CHAPMAN. De qualquer modo porém, carece de maior significação.

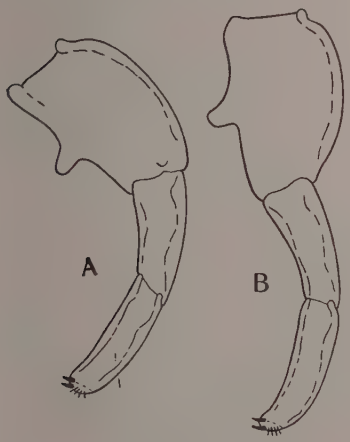


Fig. 13
Geomydoecus californicus, antenas do macho

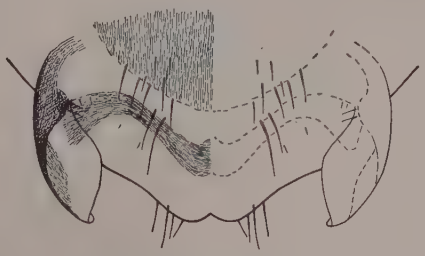


Fig. 14
Geomydoecus californicus, região genital da fêmea

Não nos foi dado examinar o holotipo de *Geomydoecus californicus* durante nossa estadia na Universidade de Stanford, onde não o conseguimos en-

Fig. 15
Geomydoecus californicus, aparelho copulador macho

contrar. E o estudo cuidadoso de sua descrição original não nos autoriza a contradizer a identificação proposta por PAINE, tendo em consideração as ine-

vitáveis inexatidões que todo trabalho humano comporta. Nestas condições, e até prova em contrário, aceitamos o parecer de PAINE.

Geomydoecus californicus é a espécie do gênero *Geomydoecus* dominante na Califórnia e, provàvelmente, em todo o sudoeste dos Estados Unidos (Utah, Arizona, Colorado, New México, Texas, Oklahoma); sua distribuição geográfica se superpõe, pelo menos em parte, a de *Geomydoecus geomydis*.

Em 1915, KELLOGG & FERRIS, após exame do exemplar usado por CHAPMAN, identificaram os espécimes comummente encontrados na Califórnia a *Geomydoecus californicus*, o que constitui mais um motivo para aceitação do parecer de PAINE. Infelizmente, porém, êstes autores, sem os necessários elementos, concluiram também pela identidade de *Geomydoecus californicus* e *Geomydoecus geomydis*. A diferença entre ambos é infima, a particularidade caracteristica de *Geomydoecus geomydis* não havia sido mencionada em nenhuma descrição e KELLOGG & FERRIS não dispuseram dos indispensáveis exemplares para estudo comparativo.

Coube a EWING o mérito de assinalar a diferença existente entre as duas espécies em questão, embora de modo pouco convincente.

A comparação dos desenhos publicados neste trabalho, poderia fazer crer erradamente, que *Geomydoecus geomydis* e *Geomydoecus californicus* pudessem ser reconhecidos por uma diferença de aspecto geral, resultante sobretudo da diferença existente na relação entre o comprimento total do insecto e a largura máxima do abdome. Tal fato, entretanto, decorre exclusivamente da circunstância de têrmos sido forçados a usar de espécimes tratados pela potassa para os desenhos de *Geomydoecus geomydis*, enquanto que os de *Geomydoecus californicus* foram feitos de espécimes frescos, clareados no fenol. Mais tarde, quando obtivemos material adequado de *Geomydoecus geomydis*, julgamos desnecessário desenhá-lo novamente, não havendo interêsse algum na publicação de desenhos idênticos e por nos parecer mais útil demonstrar as alterações que o tratamento pelos álcalis pode ocasionar nos espécimes a êle submetidos.

Geomydoecus expansus (DUGES)

1902 — *Trichodectes geomdis*, var. *expansus*, DUGES, Memorias y Revista de la Sociedad Cientifica "Antonio Alzate", vol. 18, págs. 185-187, figs.

1916 — *Trichodectes expansus*, HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 70.

1936 — *Geomydoecus expansus*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 242.

1938 — *Geomydoecus expansus*, KÉLER, Nova Acta Leopoldina, n. s., vol. 5, n.° 32 págs. 463.

HOSPEDADOR TIPO: Descónhecido.

Pouco se pode afirmar sôbre o hospedador dos especimes descritos por DUGES, quase nada tendo sido publicado a seu respeito:

"El Sr. Dr. Silvio Bonansea, de la Comisión de Parasitología agrícola de México, tuvo la bondad de remitirme para su estudio unos parásitos encontrados por él en abundancia en la tuza (*Geomys mexicanus*, Licht.; *Platygeomys gymnurus*, Merr.)."

O trecho acima transcrito comporta duas interpretações.

Num caso, DUGES teria recebido, pelo menos, dois lotes de material — um colhido em *Geomys mexicanus*, outro em *Platygeomys gymnurus*. A escolha arbitrária de qualquer dêstes nomes para designar o hospedador tipo não ofereceria nenhuma garantia de recair sôbre o portador dos exemplares descritos, condição absolutamente indispensável, visto não ser possível afirmar que os parasitos dos dois lotes fôssem idênticos, mesmo que assim tivessem sido considerados por DUGES. E se o portador dos cotipos de *Geomydoecus expansus* fôsse a "tuza" determinada como *Geomys mexicanus* (Lichtenstein), sua identidade permaneceria desconhecida porque tal nome não tem significação precisa e se aplica, segundo Merriam, a geomiideos pertencentes, no mínimo, a dois gêneros diferentes.

Mas, a nosso ver, a hipótese mais provável é que os nomes *Geomys mexicanus* e *Platygeomys gymnurus* tenham sido empregados para esclarecer o significado da denominação popular do hospedador. De fato, a palavra "tuza", equivalente a "pocket gopher" e para a qual desconhecemos tradução em português, serve, no México, para todos os membros da família *Geomyidae*.

Sôbre a localidade tipo não há, no trecho citado, menor referência, pois a única coisa declaradamente mexicana que aí se encontra, é a Comissão de Parasitologia Agrícola. Contudo, acreditamos que os parasitos também o fôssem.

NOTA:

E' evidente que não só a descrição como os desenhos disponíveis de *Geomydoecus expansus* são deficientes e imperfeitos, não permitindo de modo algum o reconhecimento da espécie. Se os aceitássemos, tal como foram publicados, deveríamos admitir, em *Geomydoecus expansus*, a ausência completa de pêlos na face ventral do abdome, a existência de dois pequenos ganchos

quitinosos no penúltimo esternito do macho, etc. Mas, em desacôrdo com o proceder de certos autores, achamos mais acertado considerar todos êstes estranhos caracteres como resultantes de observações imperfeitas.

Acreditamos que *Geomydoecus expansus* tenha o aparelho copulador macho semelhante aos de *Geomydoecus geomydis*, *Geomydoecus californicus* etc., porque nestas espécies se pode ver por transparência, na face ventral e ao nível do penúltimo segmento do abdome, duas formações quitinosas em forma de gancho, constituídas pelos ramos terminais da placa basal e pelas extremidades anteriores, do pseudopênis. Via de regra, é possível ver, por transparência também, os grandes espinhos da vesícula pênis. Conquanto êstes geralmente se encontrem situados mais para diante, é forçoso admitir que, dada a mobilidade da vesícula, possam êles se encontrar ocasionalmente ao nível do penúltimo tergito.

De saliência na margem posterior do primeiro artículo antenal do macho, não há menor vestígio nos desenhos de DUGES, nem referência alguma na descrição da espécie. Assim, é lícito supor que, neste particular, *Geomydoecus expansus* se aproxime mais de *Geomydoecus geomydis* que de *Geomydoecus californicus*, onde tal formação é sempre visível com facilidade.

Nestas condições, supomos que *Geomydoecus expansus* seja uma espécie próxima a *Geomydoecus geomydis* da qual se distingue pela relação entre as dimensões da cabeça, muito mais larga no primeiro.

Todavia, só o exame dos espécimes descritos por DUGES poderia proporcionar conhecimento perfeito da espécie, removendo tôdas as dúvidas existentes a seu respeito. Talvez êste material se encontre no Museu Alfredo Duges, em Guanajuato, no México, onde se acham depositados os remanecentes das coleções do referido autor. E' esta uma busca que merece ser feita. Lastimamos ter perdido ótima oportunidade de realizá-la quando de nossa estadia em Guanajuato, durante alguns dias de fevereiro de 1944, por ignorar, então, a existência do museu.

Influenciados pelo nome do hospedador, descrevemos em 1936 um *Geomydoecus* ao qual atribuímos o nome de *expansus*. E' óbvio que tal determinação deve ser rejeitada por constituir êrro crasso, visto como a espécie então descrita possui indubitàvelmente caracteres em desacôrdo com a descrição de *Geomydoecus expansus*: ausência de espinhos temporais, cabeça relativamente estreita e quetotaxia abdominal do macho muito característica.

Adiante descrevemos uma espécie mexicana, que sabemos ser comum, e que coincide com *Geomydoecus expansus*, tal como o imaginamos.

Geomydoecus SP.

Fêmea (fig. 16). Comprimento: 1.34 mm.

Muito parecida a de *Geomydoecus geomydis*, da qual se distingue unicamente pela forma da cabeça (fig. 18), ainda mais larga.

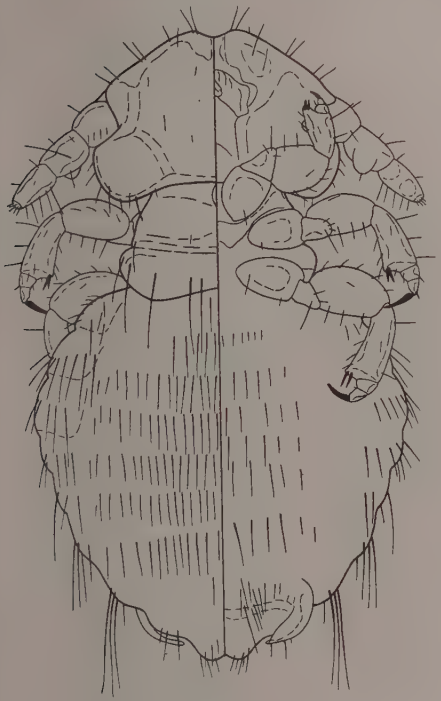


Fig. 16
Geomydoecus sp., fêmea

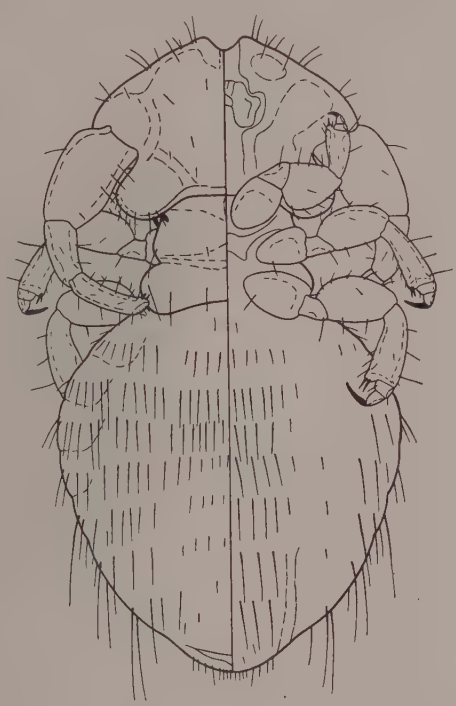


Fig. 17
Geomydoecus sp., macho

Macho (fig. 17). Comprimento: 1.36 mm.

Também semelhante ao de *Geomydoecus geomydis*, mas com a cabeça (fig. 19) mais larga, quase sempre destituído de saliência no primeiro segmento das antenas e com a placa endomeral mais longa e estreita (fig. 20).

NOTA:

Acreditamos que os exemplares acima descritos, colhidos em "Geomys mexicanus" do Vale do México (Bishopp n.º 10.958), sejam de *Geomydoecus expansus*, mas isto não é senão simples suposição, razão pela qual deixamos de lhes atribuir um nome específico. Na realidade êles discordam um tanto dos desenhos de DUGES, mesmo na relação entre a largura e o compri-

mento da cabeça, mas, como anteriormente foi dito, não é razoável admitir que êstes últimos sejam de uma exatidão absoluta.

Quase todos os machos examinados são pràticamente destituídos de saliência no primeiro artículo das antenas; n'outros, porém, se encontram vestígios desta formação. Encontramos, também, alguns espécimes com a placa endomeral mais curta, o que atribuímos ao fato de se achar esta ligeiramente inclinada para cima.

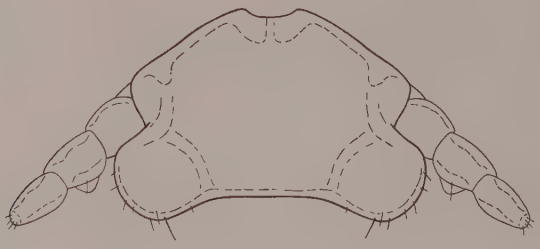


Fig. 18
Geomydoecus sp., cabeça da fêmea

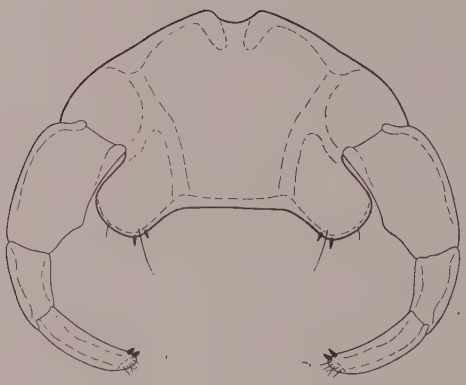


Fig. 19
Geomydoecus sp., cabeça do macho

Fig. 20
Geomydoecus sp., aparelho copulador macho

Geomydoecus texanus Ewing

1936 — *Geomydoecus texanus*, Ewing, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 241.

Hospedador tipo: *Geomys personatus fallax* Merriam, de Corpus Christi Bay, Flour Bluff, Texas, Estados Unidos.

Hospedadores outros:

Ewing encontrou a mesma espécie num exemplar de *Geomys personatus* cuja subespécie não foi determinada.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— O macho holotipo, uma fêmea e três jovens paratipos, colhidos em *Geomys personatus fallax*, de Corpus Christi Bay, por F. Harper, em 22-VII-1929.

— Duas fêmeas e três jovens, paratipos, colhidos também em *Geomys personatus fallax* de Corpus Christi Bay, por F. Harper, em 23-VII-1929.

— Duas fêmeas, dois machos e dois jovens, paratipos, colhidos em *Geomys personatus* ssp., de Sarita, Kinney Co., Texas, Estados Unidos.

O material acima, que constitui todo o lote tipo da espécie, se encontra em três lâminas pertencentes ao U. S. National Museum.

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 21). Comprimento: 1.26 mm.

Cabeça (fig. 23) parecida as de *Geomydoecus geomydis* e *Geomydoecus californicus*, porém ligeiramente mais estreita, com a região preantenal mais curta e a postantenal mais

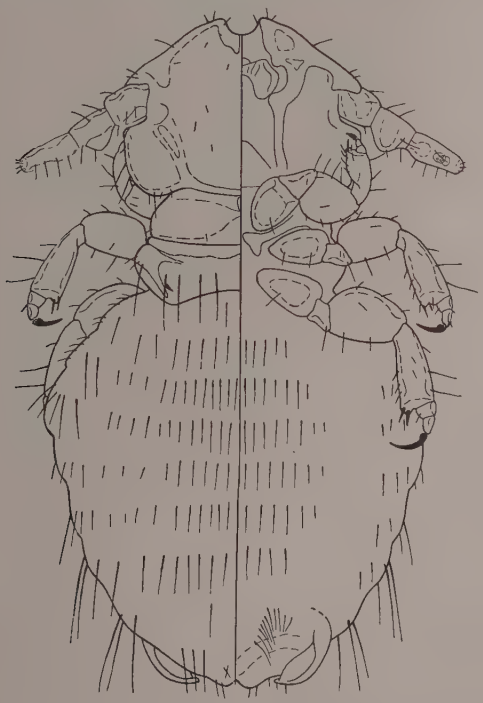


Fig. 21
Geomydoecus texanus, fêmea

longa. Têmporas do mesmo comprimento que as das referidas espécies, mas consideràvelmente mais estreitas e menos projetadas para trás.

A fêmea de *Geomydoecus texanus* se distingue ainda das acima referidas, por possuir maior número de cerdas, e de cerdas mais fortes, na região genital (fig. 26), onde há duas manchas laterais cuja existência não nos foi dado verificar nas espécies em confronto. Não atribuímos, alias, a esta última particularidade, mencionada apenas por escrúpulo, valor algum, porque nos parece resultar de simples aumento na intensidade da pigmentação dos espécimes estudados.

Macho (fig. 22). Comprimento: 1.28 mm.

Muito semelhante aos de *Geomydoecus geomydis* e *Geomydoecus californicus*, dos quais difere pela forma da cabeça (fig. 24) que, como na fêmea, é mais estreita e tem as regiões temporais menos salientes para fora; pela absoluta ausência de saliência na margem poste-

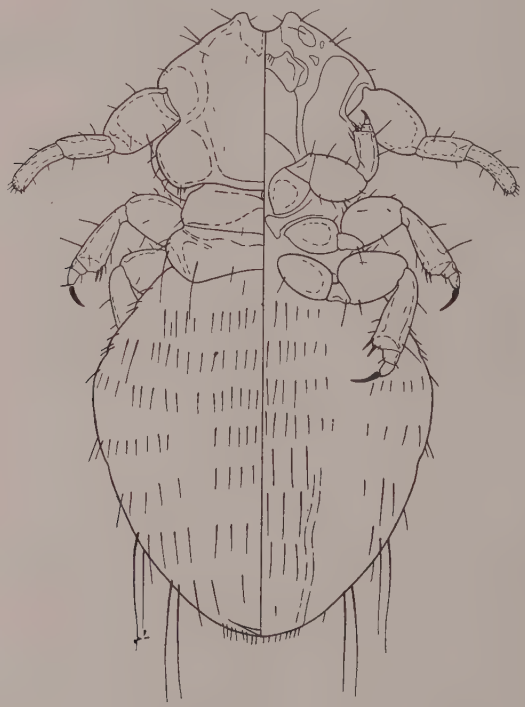


Fig. 22
Geomydoecus texanus, macho

rior do primeiro artículo antenal, ainda quando as antenas se encontram fortemente encurvadas (fig. 25), e pela relação entre as dimensões da placa endomeral (fig. 27), ligeiramente mais alongada.

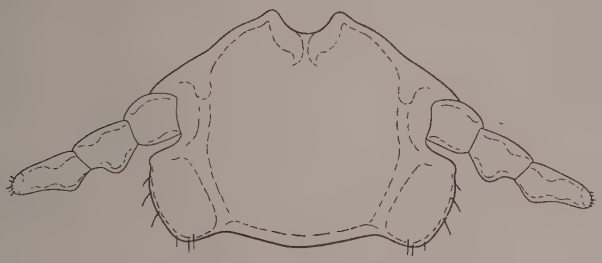


Fig. 23
Geomydoecus texanus, cabeça da fêmea

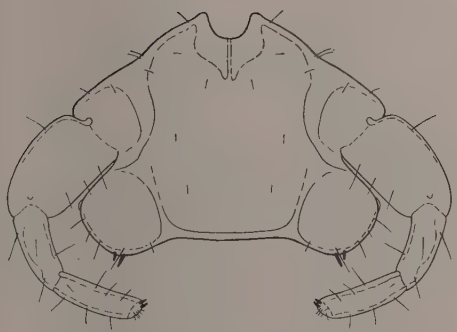


Fig. 24
Geomydoecus texanus, cabeça do macho

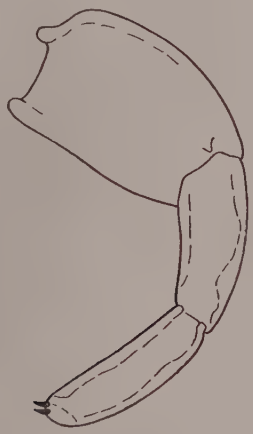


Fig. 25
Geomydoecus texanus, antena do macho

Fig. 26
Geomydoecus texanus, região genital da fêmea

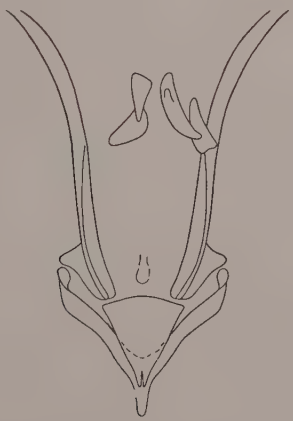


Fig. 27
Geomydoecus texanus, aparelho copulador macho

Geomydoecus scleritus (Mc Gregor)

1917 — *Trichodectes scleritus*, Mc Gregor, Annals of the Entomological Society of America, vol. 10, págs. 172-173, pl. 17, fig. 5.

1936 — *Geomydoecus scleritus*, Ewing, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 242.

1938 — *Geomydoecus scleritus*, Kéler, Nova Ata Leopoldina, n. s. vol. 5, n.° 32, pags. 463.

1940 — *Geomydoecus scleritus*, Emerson, Canadian Entomologist, vol. 72, págs. 105.

Hospedador tipo: "Gopher", da Flórida, Estados Unidos.

Hospedadores outros:

Segundo Emerson, a espécie se encontra em *Geomys breviceps* ssp., de Tecumseh, Stillwater, Oklahoma, Estados Unidos. De acôrdo com a relação do material por nós examinado, *Geomydoecus scleritus* ocorre em: *Geomys floridanus floridanus* Audubon & Bachman, *Geomys floridanus austrinus* Bangs, *Geomys tuza tuza* Barton, e *Geomys colonus* Bangs, da Flórida e da Geórgia, Estados Unidos.

Espécimes examinados:

— Quatro fêmeas e doze jovens, cotipos, numa lâmina pertencente ao U. S. National Museum.

— Oito fêmeas e cinco jovens, colhidos em três espécimes de *Geomys floridanus floridanus*, de diferentes localidades da Flórida, Estados Unidos.

— Várias fêmeas e formas imaturas, colhidas em *Geomys floridanus austrinus*, de diversas localidades (St. Marks, Wakalla, Dowling Park, Falmouth, Gaineville) da Flórida, Estados Unidos.

— Uma fêmea e muitos jovens, colhidos em *Geomys floridanus* ssp., de De Soto City, Flórida, Estados Unidos.

— Dezesseis fêmeas e nove jovens, colhidos em *Geomys tuza tuza*, de várias localidades (Mayo, Ellaville, Day) da Flórida e (Folkston, Allapaha Road & Highway 84, Kingsland) da Geórgia, Estados Unidos.

— Uma fêmea e dois jovens, colhidos em *Geomys colonus*, de St. Marys, Geórgia, Estados Unidos.

— Quatorze fêmeas e três jovens, colhidos em "pocket gopher" de Tallahassee, Flórida, Estados Unidos, por B. V. Travis, em XI-1936.

— Cinco fêmeas e três jovens, colhidos em *Neotoma* sp. (wood rat) de Tallahassee, Flórida, Estados Unidos, por B. V. Travis, em XI-1936. Trata-se certamente de contaminação proveniente do "pocket gopher" acima referido.

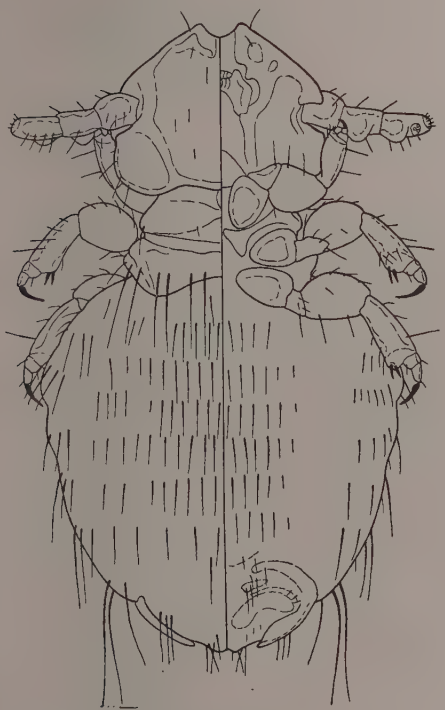


Fig. 28
Geomydoecus scleritus, fêmea

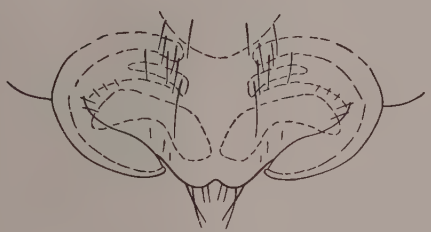


Fig. 30
Geomydoecus scleritus, região genital da fêmea

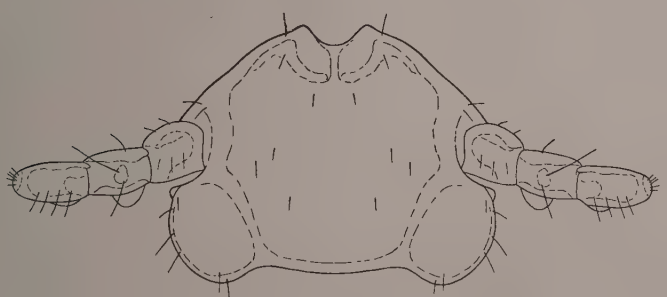


Fig. 29
Geomydoecus scleritus, cabeça da fêmea

DESCRIÇÃO:

Femea (fig. 28). Comprimento: 1.04 mm

Cabeça (fig. 29) muito parecida com a de *Geomydoecus texanus*, porém mais estreita e com as têmporas ligeiramente mais largas.

Quanto ao resto, a fêmea de *Geomydoecus scleritus* nos parece idêntica as de *Geomydoecus geomydis* e *Geomydoecus californicus*, não nos sendo possível atribuir valor decisivo as pequenas diferenças de pigmentação encontradas em sua região genital (fig. 30).

Macho desconhecido.

NOTA:

As diferenças entre as fêmeas das espécies do gênero *Geomydoecus* são, via de regra, pouco acentuadas. Assim, não é de estranhar o fato de não têrmos encontrado caracteres que facultem reconhecer fàcilmente a de *Geomydoecus scleritus*. Todavia, ela se distingue das de *Geomydoecus geomydis*, *Geomydoecus californicus* e *Geomydoecus expansus* por possuir cabeça sensìvelmente mais estreita e das de *Geomydoecus texanus*, *Geomydoecus thomomyus* e *Geomydoecus copei* pelo número de cerdas da região genital.

Geomydoecus scleritus apresenta como particularidade interessante a escassez de machos, coisa que não ocorre em nenhuma outra espécie conhecida do mesmo gênero, e reduzida área de distribuição geográfica no sudeste dos Estados Unidos (Flórida, Geórgia).

E' de esperar que a descoberta do macho, revele caracteres específicos de maior vulto.

Geomydoecus thomomyus (MC GREGOR)

1917 — *Trichodectes thomomyus*, MC GREGOR, Annals of the Entomological Society of America, vol. 10, págs. 169-170, pl. 17, figs. 2-4.

1936 — *Geomydoecus thomomyus*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 241-242.

1938 — *Neotrichodectes thomomyus*, KÉLER, Nova Acta Leopoldina, n. s., vol. 5, n.° 32, págs. 464.

HOSPEDADOR TIPO: *Thomomys* sp., de JEFFERSON, Colorado, Estados Unidos.

HOSPEDADORES OUTROS:

A espécie foi assinalada por Ewing em *Thomomys fuscus* Merriam e *Thomomys douglasi* Richardson, ambos do Estado de Washington, Estados Unidos.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Todo o lote tipo da espécie, constituído por três fêmeas e um macho, em duas lâminas pertencentes ao U. S. National Museum. Uma das fêmeas acima referidas foi considerada forma jovem por MC GREGOR.

— Uma fêmea, colhida em *Thomomys fuscus,* de Colfax, Washington, Estados Unidos, numa lâmina do U. S. National Museum. Na ausência do macho, a determinação carece de rigor.

— Duas fêmeas e um macho, colhidos em *Thomomys douglasi,* de Olimpia, Washington, Estados Unidos, numa lâmina do U. S. National Museum.

— Quatro fêmeas e dois jovens, colhidos em dois espécimes de "pocket gopher" de Ochoco Forest e de Jewell, Oregon, Estados Unidos, em duas lâminas do U. S. National Museum. Na ausência dos machos, a determinação dêstes espécimes carece de rigor.

— Uma fêmea, colhida em "meadow mouse", de Olímpia, Washington, Estados Unidos, numa lâmina do U. S. National Museum. Trata-se certamente de uma contaminação, pois que o espécime foi colhido na mesma localidade e pelo mesmo colecionador que os de *Thomomys douglasi.*

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 31). Comprimento: 1.11 mm.

Cabeça (fig. 33) mais estreita que a de *Geomydoecus geomydis, Geomydoecus californicus* e *Geomydoecus texanus,* porém ligeiramente mais larga que a de *Geomydoecus scleri-*

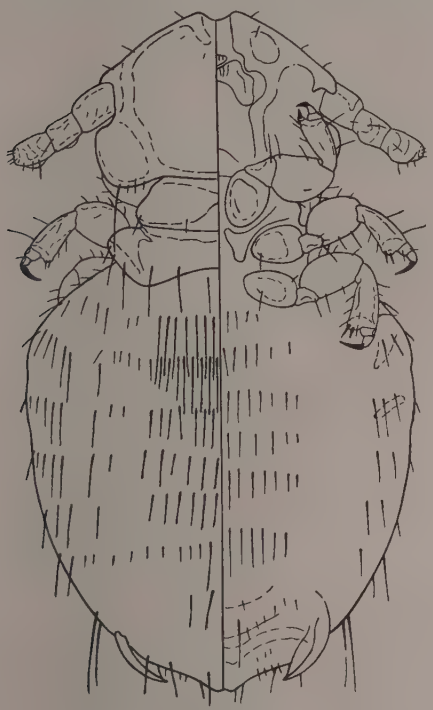


Fig. 31
Geomydoecus thomomyus, fêmea

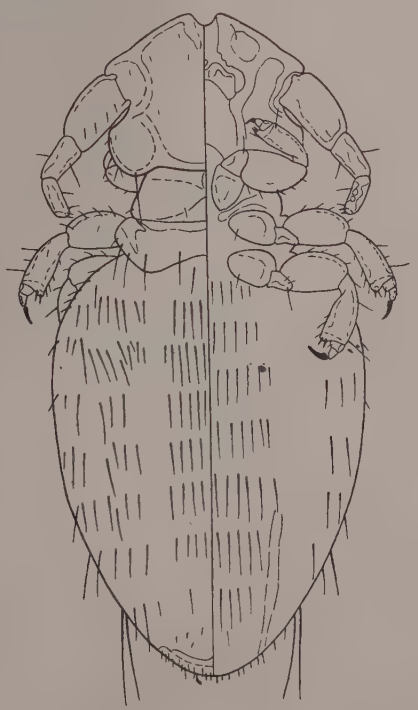


Fig. 32
Geomydoecus thomomyus, macho

tus. Comprimento da região preantenal aproximadamente igual ao desta duas últimas espécies. Comprimento da região postantenal, forma e dimensões das têmporas semelhantes aos de *Geomydoecus texanus.*

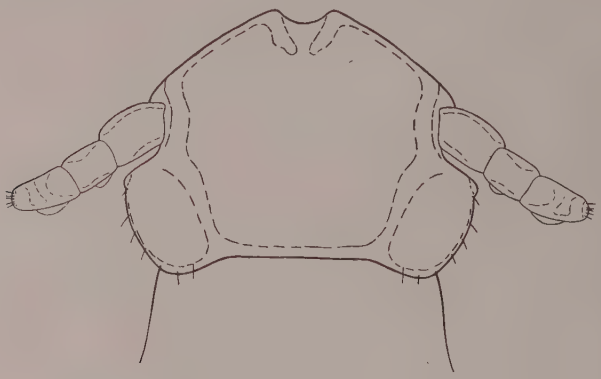


Fig. 33
Geomydoecus thomomyus, cabeça da fêmea

Fig. 34
Geomydoecus thomomyus, cabeça do macho

A fêmea de *Geomydoecus thomomyus* se distingue ainda das anteriormente estudadas neste trabalho por pequenas particularidades de quetotaxia, que, isoladas, evidentemente não bastariam para caracterizar uma espécie. Na face superior do abdome, tais particularidades consistem em acentuada diferença no tamanho das cerdas, cujo comprimento decresce gradativamente de diante para trás; na região genital (fig. 36), em redução do número e na disposição das cerdas que, em sua maioria, se estendem em fila ao longo da margem anterior da barra pigmentada aí existente. Duas destas cerdas são muito maiores que as demais e se implantam nas proximidades da linha mediana, deixando um espaço livre bem menor que o correspondente nas outras espécies.

Macho (fig. 32). Comprimento: 1.23 mm.

Difere das espécies anteriormente estudadas neste trabalho pelos caracteres adiante assinalados.

Cabeça (fig. 34) mais estreita que as de *Geomydoecus geomydis, Geomydoecus californicus* e *Geomydoecus texanus,* com a região preantenal mais curta e a postantenal mais

longa. Têmporas mais compridas e estreitas que as das duas primeiras espécies acima mencionadas e desprovidas de espinhos nas extremidades posteriores, onde se encontram cerdas semelhantes as existentes na fêmea.

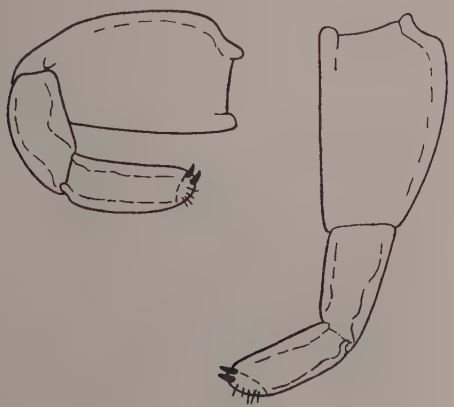


Fig. 35
Geomydoecus thomomyus, antenas do macho

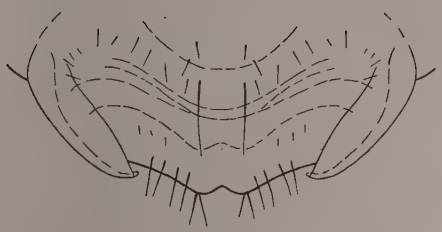


Fig. 36
Geomydoecus thomomyus, região genital da fêmea

Fig. 37
Geomydoecus thomomyus, aparelho copulador do macho

Antenas (fig. 35) como as de *Geomydoecus texanus*, isto é, sem tubérculos nas margens posteriores do primeiro artículo, mesmo quando fortemente encurvadas.

Pseudopênis (fig. 37) sem ramo terminal; em forma de V. Placa endomeral semelhante as de *Geomydoecus geomydis* e *Geomydoecus californicus*, porém maior em relação ao tamanho do aparelho copulador. Vesícula pênis com um par de grandes ganchos quitinosos.

consideràvelmente maiores que qualquer dos espinhos presentes nas demais espécies do mesmo gênero.

NOTA:

Geomydoecus thomomys pode ser mui fàcilmente reconhecido pelas características do aparelho copulador macho, notadamente pela ausência de ramo terminal no pseudopênis e pelos grandes espinhos da vesícula.

As localidades de origem dos espécimes examinados, autorizam supor sua ocorrência em tôdo o noroeste dos Estados Unidos.

Geomydoecus copei n. sp.

1936 — *Trichodectes expansus*, WERNECK, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 31, págs. 161-168, figs. 1-6 (nec Duges).

HOSPEDADOR TIPO: "Geomys mexicanus", de Misantla, México.

HOSPEDADORES OUTROS:

De acôrdo com a relação do material examinado, a espécie se encontra também sôbre *Thomomys* sp.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Os do lote tipo, constituído por grande número de exemplares de ambos os sexos, colhidos no hospedador e localidade acima mencionados, por W. Engelmann, em II-1912. Êste material nos foi enviado para determinação, em 1935, pelo Sr. Gordon B. Thompson, do Museu Britânico. Dêle guardamos em nossa coleção dois machos e duas fêmeas; os espécimes restantes foram devolvidos ao Museu Britânico, determinados como *Trichodectes expansus* Duges.

— Várias fêmeas e machos, colhidos em "Geomys mexicanus" de Misantla, México, enviados para determinação, em 1938, por Miss Teresa Clay, do Museu Britânico. Dada a ausência de determinação, de data de coleta e do nome do colecionador no rótulo junto ao material, é de crer que êstes espécimes não sejam os mesmos que examinamos em 1935, embora provàvelmente tenham sido colhidos na mesma ocasião e provenham de um mesmo lote primitivo. Todo o material foi devolvido ao referido museu, em quatro lâminas ou conservado em álcool, determinado como *Trichodectes expansus* Duges.

— Quatro lâminas, com duas fêmeas e dois machos, pertencentes ao Museu Britânico, enviadas por Miss Clay, tendo nos rótulos as seguintes indicações: "*Trichodectes*, Mole, *Talpa europaea*, 1841-27, Pres. by J. E. Gray Esq.". Os espécimes foram determinados como *Trichodectes expansus* Duges e devolvidos. Trata-se evidentemente de uma contaminação acidental.

— Duas lâminas da coleção Hopkins, com uma fêmea e um macho, rotuladas por Bedford: "Straggler on *Procavia emini*, Upper Lukenya, R. Lodja, S. Central Congo, 15-XII-1909".

— Uma lâmina, pertencente ao U. S. National Museum, com um macho colhido em *Thomomys* sp., de Tunicha Mts., Arizona, Estados Unidos, por G. G. Cantwell, em 23-VI-1927.

DESCRIÇÃO:

Fêmea. Comprimento: 1.50 mm.

Muito parecida a de *Geomydoecus texanus*, inclusive na forma da cabeça, mas podendo ser fàcilmente reconhecida pelo modo de implantação das cerdas da região genital, tôdas do mesmo comprimento e dispostas em fila simples, regular e curva, de cada lado da linha mediana.

Macho. Comprimento: 1.46 mm.

Assemelha-se também ao de *Geomydoecus texanus*, não só pela forma da cabeça como pela ausência de saliência na margem posterior do primeiro artículo antenal. Todavia, se distingue nitidamente de todos os machos do mesmo gênero, pela ausência de espinhos temporais, forma do abdome, caracteres de quetotaxia e, sobretudo, pelas particularidades do aparelho copulador.

Abdome de forma oval mui pronunciada, com o último segmento mais estreito e saliente que o de qualquer das espécies já referidas no presente trabalho. Na face superior do abdome, principalmente em sua metade posterior, há, apenas, número ínfimo de pelos, pelos estes de comprimento muito reduzido; os da face inferior, embora mais abundantes e ligeiramente mais longos e fortes, são, ainda assim, menos numerosos e mais curtos que os habitualmente encontrados nas demais espécies.

Geomydoecus copei é a unica do gênero *Geomydoecus* em que se verificam diferenças de quetotaxia entre indivíduos de sexos opostos.

Aparelho copulador (fig. 38) constituído de placa basal longa e estreita, em cuja extremidade posterior se articula um pseudopênis subtriangular, com margens encurvadas e reentrantes, e de placa endomeral subtriangular também.

NOTA:

Em 1936 descrevemos o parasito ora em estudo como se fôsse *Geomydoecus expansus* e consideramos neotipos os espécimes então em nosso poder, sem haver feito investigação alguma sôbre o paradeiro do material usado, por

Fig. 38
Geomydoecus copei, aparelho copulador do macho

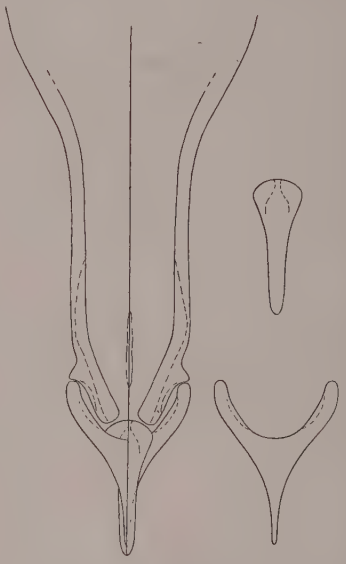


Fig. 39
Geomydoecus chapini, aparelho copulador do macho

Duges. E' evidente que agimos mal, cometendo êrro para o qual, presentemente, não encontramos justificativa. Naquela época, nos deixamos influenciar pelo nome do hospedador, que ignorávamos praticamente destituído de qualquer significação, atribuindo as divergências entre nossos espécimes e *Geomydoecus expansus* a péssima qualidade de sua descrição original. Hoje, porém, com melhores conhecimentos das espécies afins, nos é impossível manter tal ponto de vista. Somos, portanto, obrigados a denominar o parasito em aprêço por novo nome específico.

Escolhemos o de *copei* em homenagem ao Sr. Oliver B. Cope, que, ao estudar os *Geomydoecus* no laboratório do Prof. Ferris, chegou a conclusão que ora adotamos. O Sr. Cope mui amàvelmente nos comunicou, em 25-XI-1940, o resultado de suas pesquisas e nos pediu que adotássemos para nosso *Geomydoecus expansus* um nome que pudesse ser usado no trabalho que pretendia publicar. Em resposta, o autorizamos a fazer o que nos era solicitado. Infe-

lizmente, porém, chamado a outras atividades, Cope não teve tempo de terminar a revisão iniciada e, segundo informações obtidas, não há esperanças que a possa concluir. Chegado o momento de nos ocupar do gênero *Geomydoecus*, julgamos de nosso dever testemunhar-lhe todo nosso aprêço e consideração.

TIPO: Um macho.

ALOTIPO: Uma fêmea.

PARATIPOS: Várias fêmeas e machos, em preparações permanentes ou conservados em álcool, em nossa coleção e na do Museu Britânico.

Geomydoecus chapini n. sp.

HOSPEDADOR TIPO: *Geomys personatus tropicalis* Goldman, de Tabasco, México.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

O macho holotipo.

DESCRIÇÃO:

Macho. Comprimento: 1.39 mm.

Distingue-se do de *Geomydoecus copei* exclusivamente pela presença de dois pares de espinhos (um de cada lado) nas margens temporais e pelas características do aparelho copulador (fig. 39).

A comparação dos desenhos publicados no presente trabalho, feitos na mesma escala, permite notar com facilidade as diferenças existentes nos aparelhos copuladores de *Geomydoecus copei* e *Geomydoecus chapini*. Nesta última espécie, a placa basal é mais larga e a placa endomeral mais curta. O pseudopênis, de forma absolutamente distinta, possui dois ramos anteriores, articulados nas saliências das margens laterais da placa basal, cujos ramos terminais permanecem completamente livres.

Fêmea. Desconhecida

NOTA:

O único exemplar conhecido de *Geomydoecus chapini* foi por nós encontrado na pele n.º 218035 do U. S. National Museum, durante nossa estadia em Washington, e será enviado para sua coleção de malófagos.

O nome da espécie é dado em homenagem ao Dr. E. A. Chapin, Curator da Divisão de Insetos do referido museu, e como prova de gratidão pelo auxílio que nos dispensou.

Gênero **Eutrichophilus** MJÖBERG

1910 — *Eutrichophilus*, MJÖBERG, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.° 13, págs. 63.

1934 — *Eutrichophilus*, KÉLER, Bulletin International de l'Academie Polonaise des Sciences et des Lèttres, B II, págs. 261-263.

1936 — *Eutrichophilus*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 237.

1938 — *Eutrichophilus*, KÉLER, Nova Acta Leopoldina, n. s., vol. 5, n.° 32, págs. 440.

DIAGNOSE:

Espécies com os caracteres da família *Trichodectidae* e mais os seguintes.

Cabeça alongada, com a região pré-antenal subtrapezoidal ou subtriangular e têmporas geralmente angulosas e fortemente projetadas para trás. Via de regra, a forma da cabeça difere em indivíduos de sexos opostos pertencentes a mesma espécie, devido ao tamanho das fossas de implantação das antenas, maiores nos machos, que, em conseqüência, possuem a região pré-antenal mais curta.

Escleritos faringeus presentes.

Antenas com dimorfismo sexual quase sempre muito acentuado. As do macho maiores, rijas, encurvadas para dentro e constituídas por três artículos, dos quais o primeiro é consideràvelmente maior que os outros; as da fêmea, delgadas, flexíveis, com três artículos nìtidamente separados por articulações móveis, sendo o primeiro apenas mais grosso que os restantes. Todavia, no último artículo antenal da fêmea pode haver vestígios de segmentação, indicando a existência de mais dois artículos.

Tórax longo e estreito, sem dimorfismo sexual. Membros normais em algumas espécies; noutras, fortemente modificados, de tipo ambulatório.

Abdome alongado, com zonas de quitinização intensa ocupando a maior parte dos tergitos, esternitos e pleuritos. Placas tergais simples nas fêmeas; simples ou duplas nos machos. Placas esternais simples nos indivíduos de ambos os sexos. Uma só fila de pequenos pelos em cada segmento abdominal típico. Nos últimos segmentos do abdome, encontram-se longas cerdas marginais, reunidas em um ou mais grupos, cujo número varia nas diversas espécies e em indivíduos de sexos opostos de uma mesma espécie. Esta particularidade, aparentemente sem maior significação, constitui o melhor caráter para distinguir o gênero *Eutrichophilus* dos que lhe são próximos. Tais cerdas podem

existir nalguns malófagos de ungulados; nunca, porém, de comprimento comparável.

Seis pares de estigmas respiratórios abdominais.

Gonopófises geralmente muito desenvolvidas e com grande número de cerdas longas na margem interna.

Aparelho copulador macho constituído de placa basal, endômeros e parâmeros. Pseudopênis ausente.

Espécies parasitas habituais de coendídeos.

ESPÉCIE TIPO: *Eutrichophilus cercolabes* Mjöberg.

Eutrichophilus cercolabes MJÖBERG

1910 — *Eutrichophilus cercolabes*, MJÖBERG, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.° 13, págs. 72-75. pl. 4, figs. 7-8.

1913 — *Eutrichophilus cercolabes*, STOBBE, Deutsche Entomologische Zeitschrift, págs 565-566, figs. 2-3.

1916 — *Eutrichophilus cercolabes*, HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 73.

1936 — *Trichodectes cercolabes*, WERNECK, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 31, págs. 578-581, figs. 218-222.

1936 — *Eutrichophilus cercolabes*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 237.

1936 — *Eutrichophilus australis*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 239-240.

HOSPEDADOR TIPO: *Coendou* (*Coendou*) *prehensilis* LINNAEUS (= *Cercolabes prehensilis*), da Colônia de Santa Cruz, Rio Grande do Sul, Brasil.

Embora tenha sido êste o hospedador indicado por MJÖBERG para os espécimes que descreveu, não há provas que seja êle realmente um portador habitual do parasito em estudo.

Antes de mais, cumpre notar a ausência da denominação científica do hospedador no material do Museu de Hamburgo, usado por MJÖBERG, segundo se depreende do último parágrafo da descrição original da espécie:

"Von der Art mir einige Exemplare aus den Kollektionen des Hamburger-Museums von einem *Cercolabes prehensilis* vor, mit der Angabe: "von Quendu- Stachelschwein (Auris-Caschero) Colon. Sta. Cruz (Prov. Rio Grande de Sul) Fr Stiegl. mayr leg. 10-VII-1899".

Parece, portanto que, no caso em aprêço, *Cercolabes prehensilis* representa apenas a tradução para linguagem científica de um nome popular, nome êste aplicável indistintamente a todos os ccendídeos do Brasil ou ouriços caixeiros (Auris-Caschero, na pitoresca grafia do rótulo do Museu de Hamburgo).

E' verdade que, por várias vêzes, recebemos espécimes de *Eutrichophilus cercolabes* com a indicação de terem sido colhidos em *Coendou prehensilis*, mas, nestes casos, a determinação do hospedador nunca foi feita por pessoa

autorizada. Devemos, ainda, ter em conta que, no Brasil, é freqüente o uso errado do nome *prehensilis* em vez de *villosus*, por ignorantes ou semi-ignorantes em nomenclatura de mamíferos.

Em nossas buscas para coleta de malófagos, jamais os encontramos nos grandes ouriços, quase exclusivamente revestidos de espinhos, possìvelmente exemplares de *Coendou prehensilis* ou de espécies próximas. Por outro lado, nunca deixamos de os encontrar nos ouriços pequenos e peludos, sempre largamente infestados por *Eutrichophilus cercolabes*, *Eutrichophilus cordiceps* e *Eutrichophilus minor*. Parece-nos, portanto, que tal associação de parasitos é característica, senão de uma espécie, pelo menos das espécies do subgênero *Sphiggurus*, sendo improvável sua ocorrência nas do gênero *Coendou* s.str.

Hospedadores outros:

Após o que acabamos de dizer é óbvio que *Eutrichophilus cercolabes* se encontra habitualmente em *Coendou* (*Sphiggurus*) *villosus* Cuvier, sendo êste, mesmo, o único hospedador em que sua presença foi devidamente verificada.

Espécimes examinados:

— Grande número de fêmeas, machos e formas imaturas, colhidos em *Coendou* (*Sphiggurus*) *villosus* de várias localidades do Brasil, situadas nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina e no Distrito Federal.

— Duas fêmeas cotipos de *Eutrichophilus australis* e três formas imaturas (rotuladas paratipos) em três lâminas pertencentes ao U. S. National Museum, tôdas com o número 50061. Êstes espécimes, que constituem todo o lote tipo de *australis*, foram colhidos nas peles 115121 e 115123 do referido museu.

— Um macho, encontrado na pele 115121 do U. S. National Museum, mas que, segundo indicação existente no rótulo, não seria de *Eutrichophilus cercolabes*. Êste espécime se encontra montado na mesma lâmina que uma das fêmeas cotipo de *australis*.

— Três fêmeas e três machos colhidos em *Coendou* (*Sphiggurus*) *villosus*, de Sapucay, Paraguay, em seis lâminas pertencentes à Universidade de Stanford. Temos sobejas razões para crer que êste material foi colhido ao mesmo tempo e sôbre as mesmas pêles que forneceram o lote tipo de *australis*.

— Exemplares de ambos os sexos, colhidos em, *Coendou prehensilis* de diversas localidades dos Estados de São Paulo e Santa Catarina, Brasil. A determinação do hospedador acima referido não merece fé, por ter sido feita

por pessoa pouco conhecedora do assunto e que, como verificamos, aplica habitualmente o nome *prehensilis* aos ouriços do subgênero *Sphiggurus*.

DESCRIÇÃO:

Não necessitamos descrever novamente *Eutrichophilus cercolabes*, do qual já nos ocupamos em 1936. Cumpre, porém, retificar uma discrepância do desenho do aparelho copulador macho então publicado. Trata-se de um esclerito mediano adicional (fig. 40), perceptível apenas em preparações favoráveis e que havia escapado a nossa observação.

Fig 40
Eutrichophilus cercolabes, aparelho copulador do macho

NOTA:

Apesar de não termos examinado exemplares do lote tipo desta espécie, não nutrimos a menor dúvida quanto à determinação do material que nos serviu para sua redescrição. Não só o trabalho de MJÖBERG permite reconhecê-la com facilidade, como a circunstância de se encontrar sempre associada a *Eutrichophilus cordiceps* e *Eutrichophilus minor* constitui valiosa prova quanto à autenticidade do material em questão. Não se conhece, de fato, nenhum outro grupo tão característico de espécies do gênero *Eutrichophilus* vivendo sôbre qualquer membro da família *Erethizontidae* e seria coisa verdadeiramente surpreendente se outro grupo semelhante, formado de espécies passíveis de confusão com as de MJÖBERG, viesse a ser descoberto.

Quanto às particularidades assinaladas por Dr. Ewing para caracterizar *Eutrichophilus australis*, nós as atribuímos exclusivamente à deformações ocasionadas pelo processo de montagem e ao mau estado de conservação dos exemplares. Pràticamente, é impossível a obtenção de uma série de espécimes, provenientes de peles secas, sem diferença de tal ordem.

Eutrichophilus australis se distinguiria de *Eutrichophilus cercolabes* por ter a região pré-antenal trapeziforme e não subtriangular, sulco destinado aos pelos do hospedador muito mais largo e margens abdominais subparalelas. O último dêstes caracteres, altamente variável, carece de todo valor quando observado em material inadequado. O mesmo, todavia, não diremos em relação aos primeiros, que, dada a interdependência existente entre ambos, bem poderiam ser considerados como um só carácter. E isto porque representam uma adaptação do parasito ao hospedador. Tivessem êles sido devidamente verificados, em material bem conservado, de certo não os desprezariamos. Mas, no caso em questão, traduzem simples alteração do tegumento de exemplares provàvelmente macerados em álcool muito fraco ou demasiadamente tratados por um álcali cáustico.

Se *Eutrichophilus australis* fôsse, na realidade, bôa espécie, deveria ser incluída entre as que formam o grupo de malófagos peculiar a *Coendou villosus*, por ter sido encontrada de mistura com *Eutrichophilus cercolabes*, *Eutrichophilus cordiceps* e *Eutrichophilus minor*.

Eutrichophilus mexicanus (Rudow)

1866 — *Trichodectes mexicanus*, Rudow, Zeitschrift für die gesamten Naturwissenschaften, vol. 27, págs. 109, pl. 5, fig. 1.

1874 — *Trichodectes mexicanus*, Giebel, Insecta Epizoa, págs. 56.

1878 — *Trichodectes mexicanus*, Gurlt, Archiv für Naturgeschicht, vol. 44, págs 165.

1880 — *Trichodectes mexicanus*, Piaget, Les Pediculines, págs. 394.

1882 — *Trichodectes mexicanus*, Taschenberg, Nova Acta der Ksl. Leop. — Carol. — Deutschen Akademie der Naturforscher, vol. 44, n.° 1, págs. 211-213, pl. 7, fig. 8.

1908 — *Trichodectes mexicanus*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, págs. 7.

1913 — *Eutrichophilus coëndu*, Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, págs. 566-567, fig. 5.

1915 — *Trichodectes mexicanus*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, págs. 59.

1915 — *Trichodectes* (*Eutrichophilus*) *coëndu*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, págs. 59.

1916 — *Eutrichophilus mexicanus*, Harrison. Parasitology, vol. 9, págs. 74.

1916 — *Eutrichophilus coëndu*, HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 73.

1916 — *Eutrichophilus coëndu*, CUMMINGS, Proceedings of the Zoological Society of London, págs. 284.

1936 — *Eutrichophilus mexicanus*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 237.

1936 — *Eutrichophilus coëndu*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 237.

HOSPEDADOR TIPO: *Coendou* (*Sphiggurus*) *mexicanum* KERR (= *Cercolabes mexicanus*).

HOSPEDADORES OUTROS:

Não se conhece nenhum outro hospedador de *Eutrichophilus mexicanus* além do hospedador tipo, embora tenha sido êste referido por STOBBE com o nome de *Coendou novaehispaniae*.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Cinco fêmeas, cincoenta e um machos e seis formas jovens do lote tipo de *Eutrichophilus coëndu*, emprestados pelo Museu de Berlin.

— Grande número de exemplares de ambos os sexos, colhidos em *Coendou mexicanum* de diversas localidades do México (Misantla, Oaxaca, Catemaco, Jalapa) e de Guatemala.

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 41). Comprimento: 2.02 mm.

Cabeça (fig. 43) pouco mais longa do que larga. Região pré-antenal trapeziforme, tendo a margem anterior pequena (cêrca de 1/5 da largura máxima da cabeça) e reentrante e as laterais divergentes e ligeiramente encurvadas para fora. A região postantenal se divide em três zonas distintas: a mediana, limitada posteriormente pela margem occipital reta, e as laterais, ou regiões temporais, fortemente projetadas para trás e com as extremidades posteriores angulosas. Pêlos pequenos e em número reduzido: alguns nas margens anterolaterais e nas temporais, outros disseminados pela face superior ou reunidos nos espaços de tegumento delgado existentes na face inferior, ao lado da goteira destinada aos pelos do hospedador. Na face tergal, o espessamento tegumentar se apresenta em forma de faixas, ao longo de tôdas as margens da cabeça e nos limites das regiões temporais com a occipital; na ventral é êle mais acentuado na região preantenal, junto as margens anterolaterais e em volta das mandíbulas, e representado, apenas, por duas faixas paralelas na metade posterior da cabeça. Tubérculos oculares salientes.

Antenas longas, tendo de comprimento pouco mais de metade da maior largura da cabeça, filiformes e constituídas de três artículos, dos quais o primeiro é o mais grosso e o terceiro o mais comprido.

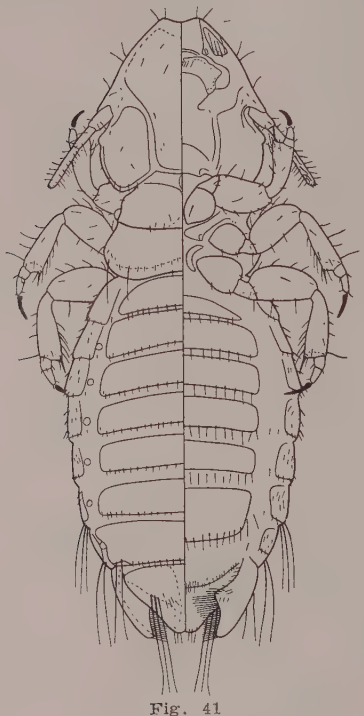


Fig. 41
Eutrichophilus mexicanus, fêmea

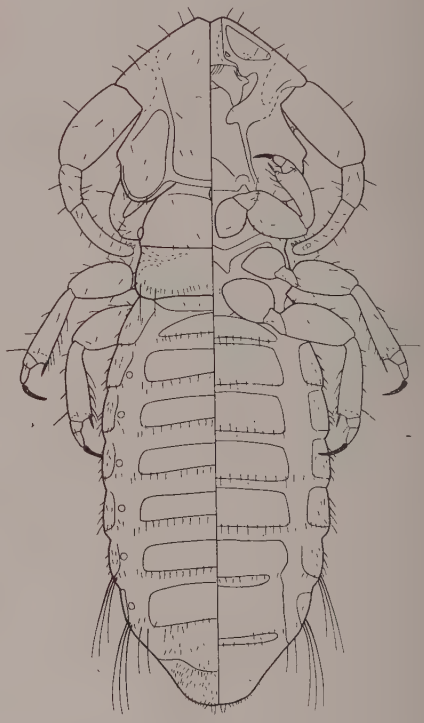


Fig. 42
Eutrichophilus mexicanus, macho

Tórax trapeziforme, com a margem anterior menor que a posterior e as laterais divergentes. Formado, aparentemente, por dois segmentos; ambos aproximadamente do mesmo comprimento, mas o anterior mais estreito que o posterior. Na face ventral há alguns pequenos pelos na região mediana do bordo posterior do protórax e outros, dispostos em fila regular, ao longo da margem do metatórax, em cujas extremidades laterais se encontram duas ou três cerdas longas. Na face ventral, devemos nos referir a presença de duas faixas quitinizadas, que se tocam na linha mediana, entre os quadris dos membros dos dois primeiros pares e a dois escleritos semilunares, junto aos quadris dos membros posteriores.

Membros de forma normal, com a extremidade distal das tíbias, oposta aos tarsos, ligeiramente dilatada e guarnecida com forte espinho. Os anteriores menores que os medianos e posteriores; êstes últimos subiguais.

Abdome largo, oval, tendo de comprimento cêrca de 2/3 do comprimento total do inseto e de largura máxima, também, cêrca de 2/3 de seu próprio comprimento. Todos os segmentos

típicos com uma placa nos tergitos, esternitos e pleuritos, guarnecidas de fila regular de pequenos pelos nas respectivas margens posteriores; os pleuritos, porém, apresentam, além dêstes, vários outros disseminados em suas superfícies. Encontram-se, ainda, cerdas longas, grupadas nos ângulos posteriores dos segmentos correspondentes ao penúltimo e ao último par de estigmas e na face superior do último segmento, junto a extremidade posterior do abdome.

Seis pares de grandes estigmas respiratórios abdominais.

Região genital (fig. 45). Gonopófises grandes, com o bordo interno em ângulo reto, guarnecido na metade anterior de pequenos pêlos e, na posterior, por grande número de cerdas longas.

A fêmea de *Eutrichophilus mexicanus* se distingue da de *Eutrichophilus cercolabes* pelos seguintes caracteres:

a) cabeça mais estreita, com a margem anterior menor e têmporas mais projetadas para trás;

b) menor diferença de tamanho entre os membros anteriores e os dos demais pares;

c) presença de cerdas longas nos ângulos posteriores do segmento abdominal correspondente ao penúltimo par de estigmas respiratórios;

d) pigmentação diferente da face superior do último tergito abdominal e ausência das manchas, longas e convergentes, existentes na região genital de *Eutrichophilus cercolabes*.

Macho (fig. 42). Comprimento: 2.03 mm.

Difere da fêmea pela forma da cabeça, das antenas, do abdome e por pequenos outros caracteres sexuais secundários.

Região pré-antenal (fig. 44) mais curta, devido ao maior desenvolvimento das fossas de implantação das antenas e, pelo mesmo motivo, com as margens anterolaterais mais fortemente divergentes.

Antenas consideràvelmente mais longas e fortes que as da fêmea, rijas e encurvadas para dentro. Primeiro artículo tendo de comprimento quase metade do comprimento total das antenas e, de diâmetro, mais do dôbro que qualquer dos outros segmentos. O segundo artículo é o mais curto e o terceiro o mais fino; sendo êste último aproximadamente duas vêzes mais longo que o mediano.

Abdome mais estreito, com as últimas placas tergais reunidas em grande placa genital e apresentando ligeiras diferenças de quetotaxia: ausência das grandes cerdas da face tergal do último segmento, substituídas por numerosos pelos pequenos.

Aparelho copulador (fig. 46) simples, constituído por placa basal larga, curta, com margens retas convergentes; parâmeros curtos e largos, de forma própria, e endômeros em forma de lâmina de sabre. Há, além disto, um esclerito mediano, transversalmente alongado entre as extremidades posteriores dos ramos da placa basal, com o bordo posterior reto e o

anterior convexo. A vesícula pênis tem, em tôda a extensão, grande número de espinhos, implantados de modo irregular; os maiores, porém, se encontram em meio de seu comprimento.

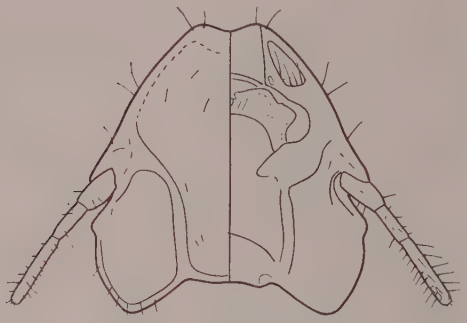


Fig. 43
Eutrichophilus mexicanus, cabeça da fêmea

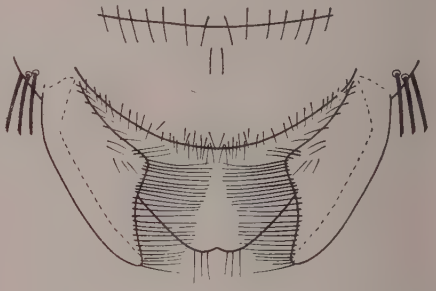


Fig 45
Eutrichophilus mexicanus, região genital da fêmea

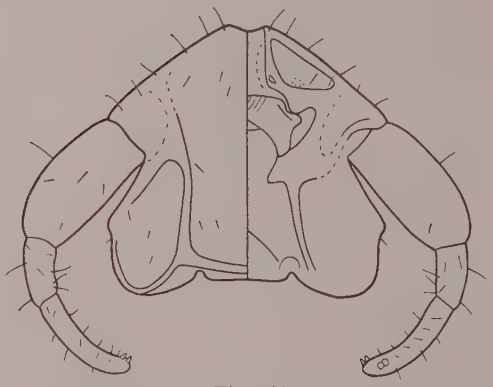


Fig. 44
Eutrichophilus mexicanus, cabeça do macho

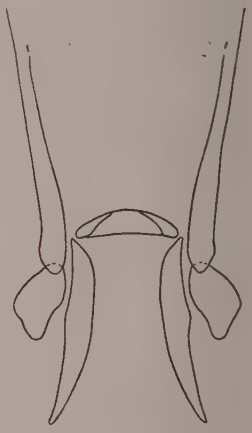


Fig. 46
Eutrichophilus mexicanus, aparelho copulador do macho

O macho de *Eutrichophilus mexicanus* se distingue do de *Eutrichophilus cercolabes* pelos caracteres seguintes:

a) cabeça com margem anterior menor, têmporas mais salientes para trás e margens anterolaterais mais divergentes. O ângulo formado por estas margens é obtuso em *Eutrichophilus mexicanus* e agudo em *Eutrichophilus cercolabes.*

b) ausência de placas tergais duplas nos tergitos abdominais.

c) presença de cerdas longas no segmento abdominal correspondente ao penúltimo par de estigmas respiratórios e de numerosos pelos pequenos na face superior do abdome, junto a sua extremidade posterior;

d) aparelho copulador com placa basal mais curta e larga; um só esclerito mediano; parâmeros e endômeros de forma diferente. Além disto, em *Eutrichophilus cercolabes*, os espinhos maiores da vesícula pênis, dispostos de modo regular, ocupam a extremidade livre dêste órgão e não como foi assinalado para *Eutrichophilus mexicanus*.

NOTA:

A identificação do parasito aqui estudado a *Trichodectes mexicanus* RUDOW é passível de crítica e de ser, razoàvelmente, aceita ou rejeitada segundo o critério adotado por cada autor. Acreditamos, porém, em sua correção, pois o material por nós examinado permite supor que não exista outro tricodectídeo peculiar a *Coendou mexicanum*. Reconhecemos, todavia, que só o exame dos tipos da espécie, acaso existentes nalguma coleção, poderia conferir a identificação em aprêço absoluto rigor, dada a deficiência das descrições disponíveis.

Com efeito, a única coisa aproveitável do trabalho de Rudow é o nome proposto para a espécie e, por infelicidade, Taschenberg se baseou, ao que supomos, numa forma imatura, erradamente tida como um macho, para redescrevê-la. Sendo tal êrro freqüentemente cometido pelos autores, embora se nos afigure imperdoável, não é de estranhar que Taschenberg o tenha cometido também.

Estamos persuadidos que qualquer conhecedor de malófagos, partilhará de nossa convicção ao primeiro golpe de vista lançado ao desenho de Taschenberg. De fato, não só a relação entre o tamanho da cabeça e do tórax comparado ao do abdome, como a forma bilobulada da extremidade posterior dêste último, são típicas das formas imaturas. A forma das antenas, delgadas, flexíveis e com o primeiro artículo pouco desenvolvido, não é a habitual aos machos do gênero *Eutrichophilus*. Mais ainda, encontramos entre cotipos de *Eutrichophilus coëndu*, formas jovens com o mesmo comprimento atribuído por Taschenberg ao macho de *Eutrichophilus mexicanus*, de inteiro acôrdo com o desenho do referido autor.

Isto posto, julgamos mais acertada a adoção da indentificação ora proposta que a permanência indefinida na vã expectativa do encontro de um parasito identico ao fantástico desenho de Rudow ou de um macho igual a forma jovem representada por Taschenberg.

Eutrichophilus cordiceps MJÖBERG

1910 — *Eutrichophilus cordiceps*, MJÖBERG, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.° 13, págs. 75-77, fig. 46, pl. 4, figs. 5-6.

1913 — *Eutrichophilus cordiceps*, STOBBE, Deutsche Entomologische Zeitschrift, págs. 566, fig. 4.

1916 — *Eutrichophilus cordiceps*, HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 74.

1936 — *Trichodectes cordiceps*, WERNECK, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 31, págs. 574-577, figs. 213-217. Est. 1.

1936 — *Eutrichophilus cordiceps*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 237.

1937 — *Eutrichophilus cordiceps*, MALTBAEK, Entomologiske Meddelelsen, vol. 20, págs. 21.

HOSPEDADOR TIPO: *Coendou* (*Coendou*) *prehensilis* LINNAEUS (= *Cercolabes prehensilis*), da Colônia de Santa Cruz, Rio Grande do Sul, Brasil.

A respeito do hospedador indicado por MJÖBERG para *Eutrichophilus cordiceps*, devem ser feitas as mesmas restrições que para o de *Eutrichophilus cercolabes*.

HOSPEDADORES OUTROS:

Como *Eutrichophilus cercolabes*, a presente espécie ocorre em *Coendou* (*Sphiggurus*) *villosus* Cuvier, onde tem sido encontrada de modo constante. Uma fêmea por nós colhida em *Coendou* (*Coendou*) *platycentrotus* Brandt e outra proveniente de *Coendou* (*Sphiggurus*) *paraguayensis* Oken, não permitem afirmar serem tais ouriços realmente hospedadores da espécie. Segundo Maltbaek *Eutrichophilus cordiceps* se encontra, ainda, em *Coendou* (*Sphiggurus*) *spinosus* Cuvier (= *Cercolabes spinosus*), de Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Inúmeros exemplares de ambos os sexos e formas imaturas colhidos em *Coendou villosus*, de várias localidades do Brasil, situadas nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul e no Distrito Federal.

— Uma fêmea, pertencente ao U. S. National Museum, encontrada na pele n.º 115121, seja numa das peles que forneceram o lote tipo de *Eutrichophilus australis*.

— Duas fêmeas e um macho, provenientes de *Coendou villosus* de Sapucay, Paraguay, em duas lâminas da Universidade de Stanford. Êstes espécimes foram, provàvelmente, colhidos nas mesmas peles e na mesma ocasião que os usados na descrição de *Eutrichophilus australis*.

— Muitas fêmeas e machos, supostamente colhidos em *Coendou prehensilis* de diversas localidades dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina, no Brasil. A determinação dos hospedadores dêstes espécimes está sujeita as mesmas restrições formuladas a respeito dos *Coendou prehensilis* que nos forneceram exemplares de *Eutrichophilus cercolabes*.

— Uma fêmea,, colhida em pele de *Coendou platycentrotus,* determinada pelo Prof. Miranda Ribeiro, pertencente ao Museu Nacional do Rio de Janeiro e proveniente de localidade desconhecida do Brasil. E' de crer que êste encontro resulte de contaminação acidental, porque os ouriços apresentam sempre infestações intensas e pelo fato de não nos ter sido possível conseguir mais exemplares do parasito sôbre a mesma pele.

— Uma fêmea, colhida em pele de *Coendou paraguayensis,* proveniente do Estado de Minas Gerais e pertencente ao Museu Nacional do Rio de Janeiro. Dada a circunstância de pertencer o ouriço acima mencionado ao subgênero *Sphiggurus* e a de terem sido encontrados dois exemplares de *Eutrichophilus minor* sôbre a mesma pele, a origem dêste exemplar é menos suspeita que a do anteriormente referido.

DESCRIÇÃO:

E' fácil distinguir *Eutrichophilus cordiceps* das espécies congenéricas anteriormente referidas neste trabalho, sobretudo em se tratando de exemplares machos. Para tanto, basta o exame de seu aparelho copulador, de aspecto absolutamente característico. Outras particularidades, entretanto, permitem chegar ao mesmo resultado, quase com idêntica facilidade. Destas, a que mais atenção disperta é a forma geral dos exemplares, decorrente da grande largura do abdome dos machos de *Eutrichophilus cordiceps*. A forma da cabeça, de margem anterior estreita e margens anterolaterais fortemente divergentes, se confunde com a de *Eutrichophilus mexicanus*. Mas, *Eutrichophilus mexicanus* não possui placas tergais duplas nos tergitos do abdome e apresenta longas cerdas marginais no segmento correspondente ao penúltimo par de estigmas.

O melhor carater para distinguir as fêmeas é a forma das gonopofises e a pigmentação da região genital. A forma da cabeça mais se parece com a das fêmeas de *Eutrichophilus mexicanus,* mas a cabeça de *Eutrichophilus cordiceps* é mais larga. Além disto, as fêmeas desta espécie, tal como os machos, não possuem cerdas longas no segmento abdominal correspondente ao penúltimo par de estigmas respiratorios.

NOTA:

A identificação do material aqui atribuído a *Eutrichophilus cordiceps,* se reveste das mesmas garantias de exatidão que a do material de *Eutrichophilus cercolabes.*

Como já tivemos ocasião de dizer, *Eutrichophilus cercolabes, Eutrichophilus cordiceps* e *Eutrichophilus minor* se encontram sempre reunidos sôbre o mesmo hospedador. Nestas infestações múltiplas, *Eutrichophilus cordiceps* é a espécie dominante e *Eutrichophilus cercolabes* a representada por menor número de indivíduos.

Eutrichophilus lobatus EWING

1936 — *Eutrichophilus lobatus*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 238-239, fig. 2.

HOSPEDADOR TIPO: *Coendou* (*Sphiggurus*) *pruinosus* Thomas, da América do Sul.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Todo o lote tipo da espécie, colhido na pele n.º 172985 e montado na lâmina 50060 do U. S. National Museum e mais sete fêmeas e um macho, encontrados na referida pele pelo Prof. Ferris. Êstes espécimes, que se encontram em quatro lâminas da Universidade de Stanford, foram, provavelmente, colhidos ao mesmo tempo que os do lote tipo.

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 47). Comprimento: 1.90 mm.

Cabeça (fig. 49) de forma característica, devido ao comprimento da região pré-antenal, a extensão reduzida e forte concavidade da margem anterior e a acentuada divergência das margens anterolaterais. A região postantenal, ainda que de forma própria, se assemelha as de algumas espécies do mesmo gênero, sobretudo com as de *Eutrichophilus mexicanus*, *Eutrichophilus cordiceps* e *Eutrichophilus minor*, cujas têmporas são, também, fortemente projetadas para trás e os bordos occipitais relativamente grandes. Espessamento do tegumento em forma de faixas, ao longo de tôdas as margens da cabeça; em ambas as suas faces, marcando os limites internos das regiões temporais e formando as paredes laterais da goteira mediana destinada aos pêlos do hospedador. Cerdas curtas e em pequeno número, tanto na periferia como nas duas faces da cabeça. Tubérculos oculares salientes.

Antenas longas, filiformes, implantadas na segunda metade da cabeça e com três segmentos: o primeiro ligeiramente mais grosso e o último muito mais longo que os demais.

Tórax apenas mais curto que a cabeça e tão largo quanto esta. Protórax trapezoidal, com as margens laterais divergentes; metatórax transversalmente alongado, tendo os ângulos posteriores arredondados e a margem posterior levemente concava. Na face tergal do tórax há algumas cerdas, nos bordos distais do pró e metatórax, sendo as dêstes último segmento torácico mais numerosas e dispostas de modo mais regular. Na face ventral se encontra o habitual espessamento tegumentar entre os quadris anteriores e os medianos e dois escleritos semilunares junto aos quadris posteriores.

Membros do mesmo tipo e semelhantes aos das espécies do gênero *Eutrichophilus* anteriormente mencionadas neste trabalho, sem nenhuma particularidade interessante a ser referida.

Abdome largo, acentuadamente oval, com a extremidade posterior fina e placas tergais, pleurais e esternais em todos os segmentos típicos. Tôdas estas placas têm as margens posteriores guarnecidas por uma fila regular de cerdas curtas; além destas, há várias outras

cerdas do mesmo comprimento dispersas pelas superfícies dos pleuritos. As cerdas longas marginais se reunem em dois grupos (um de cada lado) nos ângulos posteriores do segmento abdominal correspondente ao último par de estigmas.

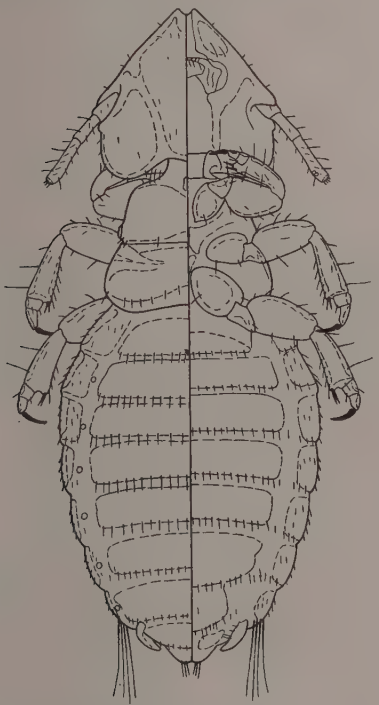


Fig. 47
Eutrichophilus lobatus, fêmea

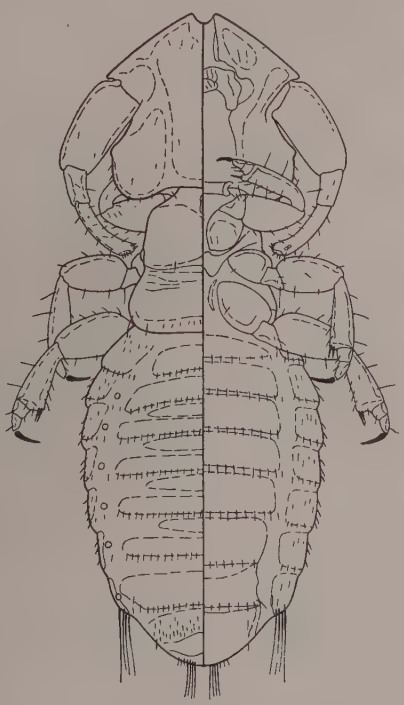


Fig. 48
Eutrichophilus lobatus, macho

Seis pares de grandes estigmas respiratórios abdominais.

Região genital (fig. 51) com uma grande placa pigmentada anterior e duas outras menores, subtriangulares, situadas mais para trás. Tôdas as cerdas que guarnecem a margem posterior da primeira placa são do mesmo comprimento. Gonopófises pequenas, em comparação com as das demais espécies do mesmo gênero, tendo nas margens internas apenas cinco ou seis cerdas, relativamente curtas.

Macho (fig. 48) Comprimento: 1.81 mm.

Difere da fêmea, principalmente, pela forma da cabeça, das antenas e do abdome, bem como pela pigmentação dêste último.

Cabeça (fig. 50) com a região pré-antenal muito mais curta, a postantenal mais longa e margens anterolaterais mais divergentes, modificações estas decorrentes do grande desenvolvimento das fossas de implantação das antenas.

Antenas mais longas que a cabeça, fortes, rijas, encurvadas para dentro e formadas de três segmentos, de forma e tamanho diferentes.

Fig. 49
Eutrichophilus lobatus, cabeça da fêmea

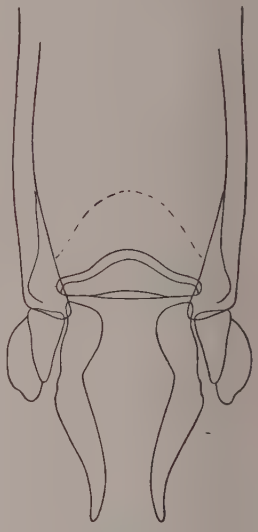


Fig. 52
Eutrichophilus lobatus, aparelho copulador macho

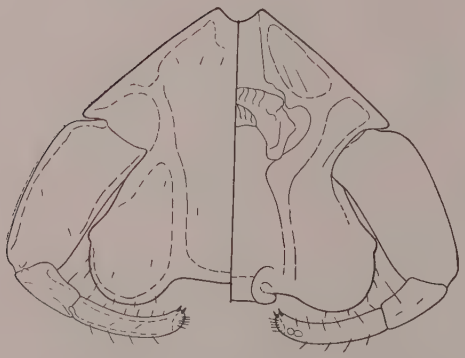


Fig. 50
Eutrichophilus lobatus, cabeça do macho

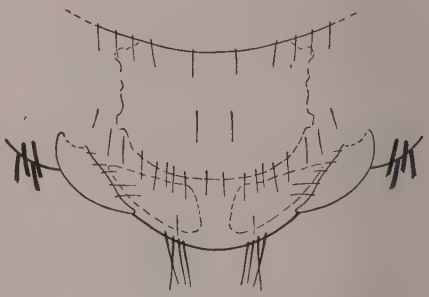


Fig. 51
Eutrichophilus lobatus, região genital da fêmea

Primeiro artículo com cêrca de metade do comprimento total das antenas e de diâmetro, aproximadamente, três vêzes maior que o terceiro. O segundo artículo, de todos o mais curto, é ligeiramente mais grosso que o terceiro.

Abdome menor, não só mais estreito como mais curto em relação ao comprimento do insecto. Placas tergais duplas nos segmentos correspondentes aos quatro primeiros pares de estigmas respiratórios. Três últimas placas esternais reunidas pelas extremidades laterais, formando grande placa genital.

Aparelho copulador (fig. 52) constituído por placa basal curta e larga, de margens laterais retas e paralelas; parâmeros de forma própria e endômeros grandes, fortes, encurvados para dentro no têrço anterior e com as extremidades distais finas e ligeiramente voltadas para fora. Entre os ramos terminais da placa basal, há um grande esclerito, transversalmente alongado, ocupando todo o espaço entre êles existente.

NOTA:

A forma da cabeça da fêmea de *Eutrichophilus lobatus* permite distinguí-la de tôdas as outras do mesmo gênero, com relativa facilidade. Entretanto, o melhor caráter a ser usado com tal fim se encontra no tamanho e forma das gonopófises, bem como no número de cerdas aí existentes.

Os melhores caracteres para identificação do macho estão no aparelho copulador, cujas peças componentes e aspecto geral de modo algum podem ser confundidos.

Contento a "lamina tipo" todo o lote tipo de *Eutrichophilus lobatus*, será necessário escolher um macho ou uma fêmea para tipo da espécie. Temos, todavia, motivos para julgar inoportuna tal escolha, que só deverá ser feita quando exames repetidos de material proveniente do hospedador tipo puderem ser realizados.

Eutrichophilus setosus (GIEBEL)

1857 — *Trichodectes hystricis* "BURMEISTER", Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, págs. 280 (nome nú).

1874 — *Trichodectes setosus*, GIEBEL, Insecta Epizoa, págs. 56.

1878 — *Trichodectes setosus*, GURLT, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, págs. 165.

1880 — *Trichodectes setosus*, PIAGET, Les Pediculines, págs. 389.

1882 — *Trichodectes setosus*, TASCHENBERG, Nova Acta der Ksl. Leop. — Carol. — Deutschen Akademie des Naturforscher, vol. 44, n.º 1, págs. 209-211, pl. 7, fig. 6.

1896 — *Trichodectes setosus*, OSBORN, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, págs. 239, fig. 145.

1900 — *Trichodectes setosus*, KELLOGG, Proceedings of the U. S. National Museum, vol. 22, págs. 68.

1902 — *Trichodectes setosus*, COCKERELL, Entomological Monthly Magazine, vol. 38, págs. 182.

1903 — *Trichodectes setosus*, MORSE, American Naturalist, vol. 37, págs. 618, fig.

1908 — *Trichodectes setosus*, KELLOGG, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, págs. 8.

1912 — *Trichodectes setosus*, PAINE, Entomological News, vol. 23, págs. 437.

1913 — *Eutrichophilus setosus*, STOBBE, Deutsche Entomologische Zeitschrift, págs. 562-564, fig. 1.

1915 — *Trichodectes* (*Eutrichophilus*) *setosus*, KELLOGG & FERRIS, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, págs. 59.

1916 — *Trichodectes hystricus* (sic), HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 70.

1916 — *Eutrichophilus setosus*, HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 74.

1916 — *Eutrichophilus setosus*, CUMMINGS, Proceedings of the Zoological Society of London, págs. 283-284, fig. 17.

1932 — *Eutrichophilus setosus*, FENSTERMACHER & JELLISON, Journal of Parasitology, vol. 18, págs. 294.

1933 — *Eutrichophilus setosus*, JELLISON, Transactions of the American Microscopical Society, vol. 52, págs. 42.

1936 — *Eutrichophilus setosus*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 237.

1938 — *Eutrichophilus setosus*, KÉLER, Nova Acta Leopoldina, n. s., vol 5, n.º 32, páginas 440-442, fig. 29.

HOSPEDADOR TIPO: *Erethizon dorsatum* LINNAEUS

Embora GIEBEL não tivesse certeza absoluta quanto à determinação do hospedador desta espécie, êste passou a ser considerado pela totalidade dos autores como hospedador tipo.

HOSPEDADORES OUTROS:

Vários autores assinalaram a presença de *Eutrichophilus setosus* em *Erethizon epixanthum* Brandt; Morse o encontrou em *Erethizon ermineus* (?) e Stobbe em *Urson* sp. Fenstermacher & Jellison verificaram a infestação de um *Macacus rhesus* de jardim zoológico, o que, apesar de muito interessante, representa mero fato acidental.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Grande número de fêmeas e machos, colhidos em *Erethizon dorsatum* de várias localidades dos Estados Unidos, Canada e Alaska e do jardim zoológico de Londres.

— Muitas fêmeas e machos, provenientes de *Erethizon epixanthum*, dos Estados Unidos (Montana, California, Colorado), Canadá (Columbia Britânica) e Alaska.

— Abundante material, com espécimes de ambos os sexos, colhido em "porcupine" "North American porcupine" e "Canadian porcupine", dos Es-

tados Unidos (New Hampshire, District of Columbia, Montana, Oregon, Idaho, Utah, Colorado), Canadá (Ontário) e Alaska.

— Dois machos, encontrados em pele de *Coendou laenatus* de Santa Ana, Honduras, numa lâmina pertencente ao U. S. National Museum.

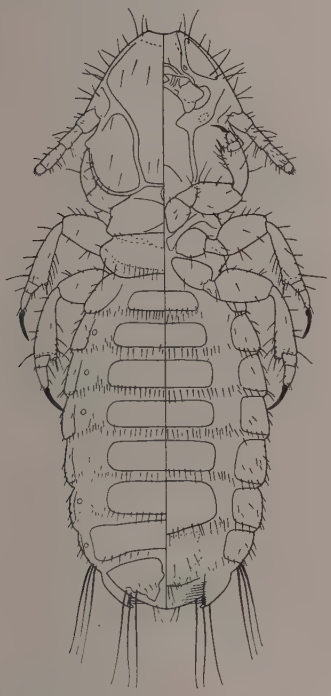


Fig. 53
Eutrichophilus setosus, fêmea

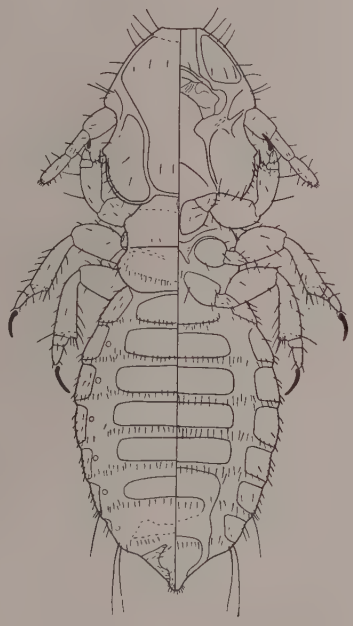


Fig. 54
Eutrichophilus setosus, macho

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 53). Comprimento: 2.10 mm.

Cabeça (fig. 55) diferente das das espécies do mesmo gênero anteriormente referidas neste trabalho, ainda que com a mesma configuração geral. Pela relação entre suas dimensões (comprimento e largura), extensão da margem anterior, curvatura e divergência das margens anterolaterais, se assemelha a de *Eutrichophilus mexicanus* e se distingue das de *Eutrichophilus cercolabes, Eutrichophilus lobatus, Eutrichophilus cordiceps.* Em *Eutrichophilus cercolabes* a margem anterior é muito maior e, em *Eutrichophilus lobatus,* muito menor; *Eutrichophilus cordiceps,* onde a referida margem tem aproximadamente a mesma extensão que a de *Eutrichophilus setosus,* se distingue pela divergência mais acentuada das margens anterolaterais, em conseqüência da maior largura de sua cabeça. Além disto, nenhuma das referidas espécies tem as têmporas tão arredondadas e tão pouco projetadas para trás quanto

Eutrichophilus setosus, que, neste particular, mais se parece com *Eutrichophilus cercolabes*. Outro aspecto próprio a espécie em estudo, reside no elevado número de longas cerdas marginais na região préantenal e no maior comprimento dos pelos da face superior da cabeça.

Antenas mais grossas que as das espécies em confronto e com vestígios de segmentação do terceiro artículo.

Quanto ao mais, a fêmea de *Eutrichophilus setosus* não apresenta nenhuma particularidade característica, a não ser o maior número de pêlos no abdome, sobretudo nos espaços compreendidos entre os pleuritos e as placas tergais e esternais. A ausência de grandes cerdas marginais no segmento abdominal correspondente ao penúltimo par de estigmas respiratórios, é outro carácter que, juntamente com a forma das regiões temporais, permite distinguí-la da fêmea de *Eutrichophilus mexicanus*.

Região genital representada na fig. 57. Ainda aí, o mais interessante a ser mencionado diz respeito as cerdas da região mediana, de comprimento muito maior que as das demais espécies do gênero.

Macho (fig. 54). Comprimento: 1.64 mm.

Difere da fêmea no tamanho, na forma das antenas e do abdome e na relação entre o comprimento do abdome e o comprimento total do inseto.

A diferença de tamanho entre o macho e a fêmea de *Eutrichophilus setosus* é a mais acentuada entre individuos de sexos opostos das espécies do gênero *Eutrichophilus*. Talvez d'aí decorra uma impossibilidade de fixação da fêmea com as antenas, durante a cópula, do que resultaria a quase ausência de dimorfismo sexual nestes apêndices. Realmente, o primeiro artículo antenal do macho de *Eutrichophilus setosus* (fig. 56) é apenas maior que o da fêmea, sendo as antenas de tipo idêntico nos indivíduos de ambos os sexos, fato êste que constitui a particularidade mais característica da espécie em questão.

Abdome mais oval, com a extremidade posterior ponteaguda e tendo de comprimento cêrca de metade do comprimento total do espécime. Grandes cerdas marginais em número menor. Placas tergais simples.

Aparelho copulador (fig. 58) de aspecto característico. Margens laterais da placa basal retas e ligeiramente convergentes em quase tôda a extensão desta peça, tornando-se, depois, encurvadas para dentro. Endômeros aproximadamente tão longos quanto a placa basal e com a metade posterior adelgaçada. Parâmeros estreitos, encurvados, com as extremidades distais reunidas por delicada faixa de quitina.

Não só o aparelho copulador, como a forma das antenas, permite distinguir o macho de *Eutrichophilus setosus* de todos os outros do mesmo gênero.

NOTA:

Eutrichophilus setosus parece ser o único tricodectídeo dos ouriços da América do Norte. Pelo menos, o vasto material que tivemos oportunidade de examinar nos autoriza a pensar assim, sem levar em conta as pequenas diferenças notadas por KELER nos desenhos e descrições de vários autores. Sabemos bem que discrepâncias de tal ordem são freqüentes, quiçá inevitáveis, e nunca esperamos encontrar dois desenhos absolutamente iguais, ainda que

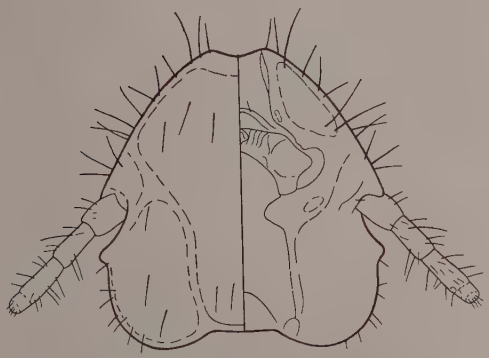


Fig. 55
Eutrichophilus setosus, cabeça da fêmea

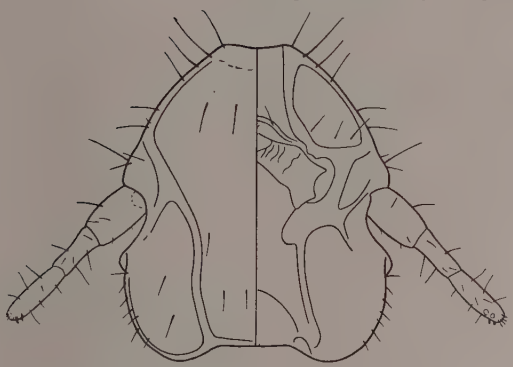


Fig. 56
Eutrichophilus setosus, cabeça do macho

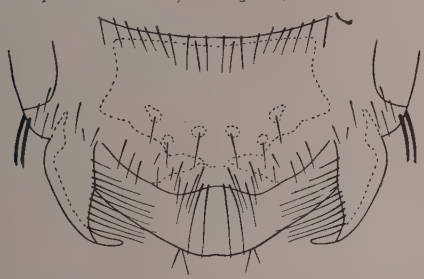


Fig. 57
Eutrichophilus setosus, região genital da fêmea

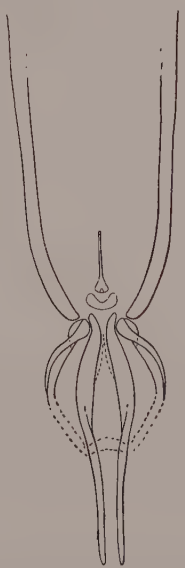


Fig. 58
Eutrichophilus setosus,
aparelho copulador
do macho

feitos do mesmo exemplar e pelo mesmo desenhista. Se exigissemos que pudessem ser superpostos, teríamos para cada espécie, contra tôda a evidência dos fatos, tantas outras quantos fôssem os autores que a tivessem descrito ou desenhado.

Não temos, portanto, dúvidas relativamente a determinação do parasito ora estudado, em perfeito acôrdo, aliás, com os dados publicados por KELER sôbre os espécimes da coleção Nitzsch, provàvelmente usados por GIEBEL para a descrição de *Eutrichophilus setosus*.

E' de crer, também, que o nome *hystricis* se refira aos mesmos exemplares, mas, considerando ter sido decidido que a simples indicação do hospedador não basta para tornar válido um nome, somos obrigados a rejeitá-lo.

Eutrichophilus minor MJÖBERG

1910 — *Eutrichophilus minor*, MJÖBERG, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, págs. 77-79, figs. 44, 47, 48, 112, pl. 4, fig. 3.

1913 — *Trichodectes setosus*, NEUMANN, Archives de Parasitologie, vol. 15, págs. 620-623, figs. 11-12 (nec Giebel).

1913 — *Eutrichophilus minor*, STOBBE, Deutsche Entomologische Zeitschrift, págs. 564-565.

1916 — *Eutrichophilus minor*, HARRISON, Parasitology, vol. 9, págs. 74.

1936 — *Trichodectes minor*, WERNECK, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 31, páginas 581-589, figs. 223-227.

1936 — *Eutrichophilus minor*, EWING, Journal of Parasitology, vol. 22, págs. 237.

1937 — *Eutrichophilus minor*, MALTBAEK, Entomologiske Meddelelsen, vol. 20, págs. 21.

HOSPEDADOR TIPO: *Coendou* (*Coendou*) *prehensilis* LINNAEUS (= *Cercolabes prehensilis*), da Colônia de Santa Cruz, Rio Grande do Sul, Brasil.

Quanto a determinação do hospedador tipo, cumpre insistir nas restrições feitas a propósito do de *Eutrichophilus cercolabes*.

HOSPEDADORES OUTROS:

Eutrichophilus minor se encontra normalmente em *Coendou* (*Sphiggurus*) *villosus* CUVIER, que parece ser seu verdadeiro hospedador. MALTBAEK o encontrou, também, em *Coendou* (*Sphiggurus*) *spinosus* CUVIER, de Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil, e, nós, em pele de *Coendou* (*Sphiggurus*) *paraguayensis* Oken, do mesmo estado.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Quatro fêmeas e um macho cotipos, pertencentes ao Museu de Berlim e que nos foram, gentilmente, emprestados para estudo.

— Grande número de fêmeas, machos e formas imaturas, colhidos em *Coendou villosus* de várias localidades do Brasil, nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina e no Distrito Federal.

— Um macho, encontrado na pele 115121 do U. S. National Museum, isto é numa das peles que forneceram o lote tipo de *Eutrichophilus australis.* Êste exemplar se acha montado numa lâmina do referido museu.

— Três fêmeas e dois machos, colhidos em *Coendou villosus,* de Sapucay, Paraguay, em cinco lâminas pertencentes a Universidade de Stanford. Com tôda a probabilidade êstes espécimes foram colhidos juntamente com os do lote tipo de *Eutrichophilus australis.*

— Várias fêmeas e machos, provenientes dos estados brasileiros de São Paulo e Santa Catarina e colhidos em *Coendou prehensilis,* cuja determinação, porém, não nos merece crédito por motivos já expostos.

— Uma fêmea e um macho, encontrados em pele de *Coendou paraguayensis,* de Minas Gerais, Brasil.

— Um macho, numa lâmina do Museu Britânico, rotulada: *"Eutrichophilus,* Bolivia, *Chinchilla lanigera,* 1880-7, O. Thomas Esq.". Trata-se, evidentemente, de encontro resultante de contaminação acidental ou, talvez, de êrro de rotulagem.

Descrição:

Já tivemos oportunidade de nos ocupar de *Eutrichophilus minor* em trabalho dedicado aos malófagos dos mamíferos sulamericanos e julgamos desnecessário repetir agora o que naquela ocasião foi dito. Convem, todavia, assinalar as particularidades mais características da espécie, suficientes para distinguí-la de tôdas as outras do mesmo gênero, com o fim de facilitar seu reconhecimento.

A fêmea de *Eutrichophilus minor* pode ser identificada pela forma e, sobretudo, pelo tamanho das gonopófises, cujos bordos internos são guarnecidos de cerdas relativamente curtas, e por um grupo de numerosos pelos pequenos situado no ápice do lóbulo subgenital; o macho, pela grande disproporção entre o comprimento do abdome e seu comprimento total, além das características do aparelho copulador.

Vimos, ao tratar de *Eutrichophilus setosus,* que o macho desta espécie tem o abdome relativamente pequeno quando comparado ao da fêmea. Em *Eutrichophilus minor,* porém, está disproporção é consideràvelmente maior, bastando dizer que, para um abdome muito menor, o macho possui o conjunto cabeça-tórax maior que o da fêmea.

No abundante material de que dispomos, verificamos ligeira variação no aparelho copulador do macho de *Eutrichophilus minor,* no que respeita a maior ou menor curvatura dos bordos laterais da placa basal e dos endômeros, assim como no comprimento destas últimas peças. Tal fato, entretanto, parece destituído de maior significação, não só porque entre as formas variantes extremas há ininterrupta série de intermediárias, como por não ser possível relacioná-la a distribuição do parasito em hospedadores ou regiões geográficas distintas.

NOTA:

O exame dos espécimes do lote tipo de *Eutrichophilus minor*, que nos foram emprestados pelo Museu de Berlin, veio confirmar a determinação que havíamos anteriormente feito da espécie ora estudada e, de algum modo, reforçar as razões que nos levam a crer na exatidão da determinação de seus satélites, isto é de *Eutrichophilus cercolabes* e *Eutrichophilus cordiceps*.

Eutrichophilus maximus BEDFORD

1939 — *Eutrichophilus maximus*, BEDFORD, Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry, vol. 12, págs. 118-119, fig. 14.

1941 — *Eutrichophilus maximus*, HOPKINS, Annals and Magazine of Natural History, ser. 11, vol. 7, págs. 282.

HOSPEDADOR TIPO: *Coendou* (*Coendou*) *rothschildi* Thomas, de Gamboa, Zona do Canal, Panamá.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

A fêmea holotipo, gentilmente emprestada pelo Serviço de Veterinária de Onderstepoort.

DESCRIÇÃO:

Fêmea (fig. 59). Comprimento 2.73 mm.

Cabeça (fig. 60) com grande margem anterior (cêrca de 2/5 de sua largura) ligeiramente reentrante, margens anterolaterais retas e divergentes (em ângulo de 66.°), têmporas arredondadas e pouco salientes para trás e bordo occipital pequeno. Pêlos relativamente abundantes e longos, nas margens laterais da região préantenal; curtos e escassos nas margens temporais e na face superior da cabeça. Espessamento do tegumento em forma de faixas periféricas ou separando, tanto na face superior da cabeça como na inferior, as regiões temporais da occipital. Goteira destinada aos pêlos do hospedador muito larga e mandíbulas consideràvelmente desenvolvidas, Tubérculos oculares salientes.

Antenas delgadas, flexíveis, implantadas em meio do comprimento da cabeça e constituídas por três artículos, dos quais o primeiro é o mais grosso e curto e o último o mais longo.

Tórax mais curto que a cabeça e, ao nível da margem posterior, quase tão largo quanto esta. Visto pela face superior, parece formado por dois segmentos únicos. Pêlos em número reduzido, na face tergal do protórax e ao longo da margem posterior do metatórax;

êstes últimos se acham implantados em fila regular, em cujas extremidades laterais se encontram os mais compridos. Na face inferior do tórax, além das faixas de tegumento espessado existentes entre os quadris dos membros anteriores e medianos, há dois escleritos semilunares junto aos quadris posteriores.

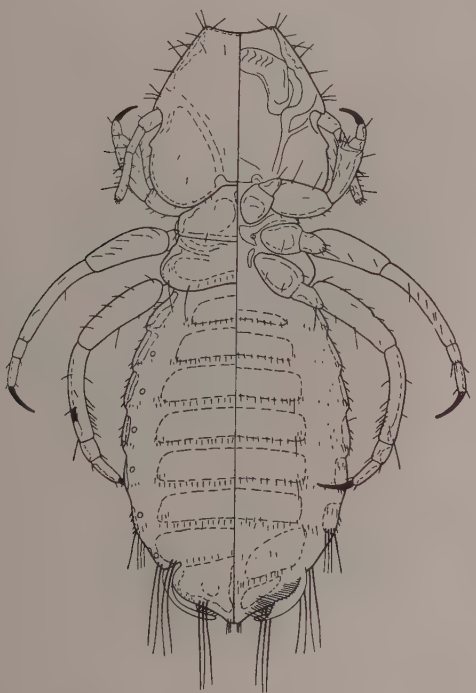


Fig. 59
Eutrichophilus maximus, fêmea

Membros do primeiro par normais; os outros consideràvelmente mais longos e de tipo completamente diferente (fig. 61), dada a ausência de dilatação das extremidades das tíbias, reduzidas, assim, a um diâmetro aproximadamente igual aos dos primeiros tarsos.

Abdome largo, oval, com placas tergais, pleurais e esternais em todos os segmentos típicos. Pelos curtos, dispostos em fila regular ao longo das margens posteriores de todos os tergitos e esternitos e disseminados irregularmente pelas superfícies dos pleuritos. De cada lado do abdome,, há três grupos de cerdas longas: um implantado no bordo posterior do pleurito correspondente ao penúltimo par de estigmas respiratórios, outro localizado do mesmo modo no segmento abdominal seguinte e o último junto à extremidade posterior do abdome. As cerdas do primeiro grupo são menores que as dos dois outros.

Seis pares de estigmas respiratórios abdominais de tamanho médio.

Região genital (fig. 62) com gonopófises grandes, sobretudo muito longas, tendo um lóbulo nas margens internas; estas últimas inteiramente guarnecidas de cerdas que, de um modo geral, aumentam gradativamente de comprimento de diante para trás.

Macho. Desconhecido.

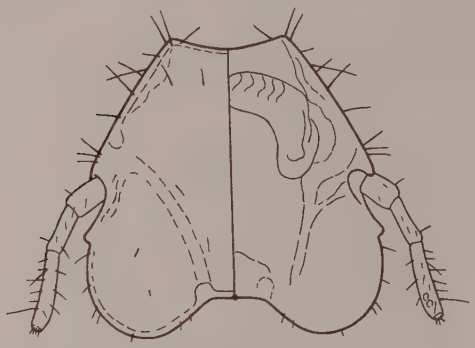


Fig 60
Eutrichophilus maximus, cabeça da fêmea

Fig. 61
Eutrichophilus maximus, membros da fêmea

Fig. 62
Eutrichophilus maximus, região genital da fêmea

NOTA:

O aspecto característico de *Eutrichophilus maximus,* que permite distinguí-lo à primeira vista das demais espécies do mesmo gênero, lhe é comunicado por certas particularidades que traduzem adaptação do parasito ao hospedador.

Quase todos os tricodectídeos têm um modo mui peculiar de fixação consistindo na introdução de um pêlo do hospedador na goteira existente na face inferior da cabeça, a qual, em seguida, é fechada pelas mandíbulas. Assim, é evidente que a largura da goteira em questão e o tamanho das mandíbulas que

a devem fechar, dependem do diâmetro do pêlo. De outro lado, da largura da goteira depende a extensão da margem anterior da cabeça, como demonstra a observação, não só das espécies do genêro *Eutrichophilus*, como das do gênero *Tricholipeurus*, etc.

E se as três principais características da cabeça de *Eutrichophilus maximus* — grande largura da goteira e da margem anterior e tamanho das mandíbulas muito acima do normal — decorrem de uma adaptação à espessura dos pêlos do hospedador, o mesmo se pode dizer da aberrante forma dos membros medianos e posteriores. Ignoramos a maneira de caminhar de *Eutrichophilus maximus*, mas é certo que não pode ser idêntica a das espécies já estudadas neste trabalho, seja a da grande maioria dos tricodectídeos. Provàvelmente, a espessura dos pelos requereria monstruosa dilatação das extremidades distais das tíbias, para prendê-los de encontro aos tarsos e unhas, e por isso — digamos assim — o parasito optou por outro meio de locomoção, para o qual necessita de membros extremamente longos.

Eutrichophilus moojeni n. sp.

HOSPEDADOR TIPO: *Chaetomys subspinosus* (KUHL), de Santa Teresa, Estado do Espírito Santo, Brasil.

ESPÉCIMES EXAMINADOS:

— Os do lote tipo, constituído pelo macho tipo, a fêmea alotipo e muitos machos, fêmeas e formas imaturas paratipos, montados em preparações permanentes ou conservados em álcool.

— Material abundante, com exemplares de ambos os sexos e formas imaturas, colhido em *Chaetomys subspinosus*, de Colatina, Espírito Santo, Brasil.

Fêmea (fig. 63). Comprimento: 2:40 mm.

Cabeça (fig. 65) alongada, com pequena margem anterior, margens anterolaterais ligeiramente arqueadas, têmporas arredondadas e não salientes para os lados ou para trás e curto bordo occipital. Pêlos longos e em número relativamente elevado nas margens da região pré-antenal; curtos e pouco abundantes nas margens temporais e na face superior da cabeça. Espessamento do tegumento em forma de faixas periféricas ao longo das margens da cabeça ou sôbre suas faces, nos limites internos das regiões temporais, sem nada de particular. Entretanto, dada a ausência de sulco destinado aos pêlos do hospedador, o espessamento existente na porção anterior da face inferior da cabeça é muito menos acentuado que de costume. Tubérculos oculares salientes.

Antenas delgadas, flexíveis e de comprimento fora do comum, sendo quase tão longas quanto à cabeça. Formadas de três artículos nitidamente separados, dos quais o primeiro

é o mais grosso e curto e o terceiro o mais longo e fino. Êste último apresenta, em sua extremidade distal, acentuados vestígios de segmentação, a tal ponto que não seria descabido considerar as antenas como constituídas por cinco segmentos. Neste caso, seria necessário distinguir as articulações fixas dos dois últimos segmentos das articulações móveis dos demais.

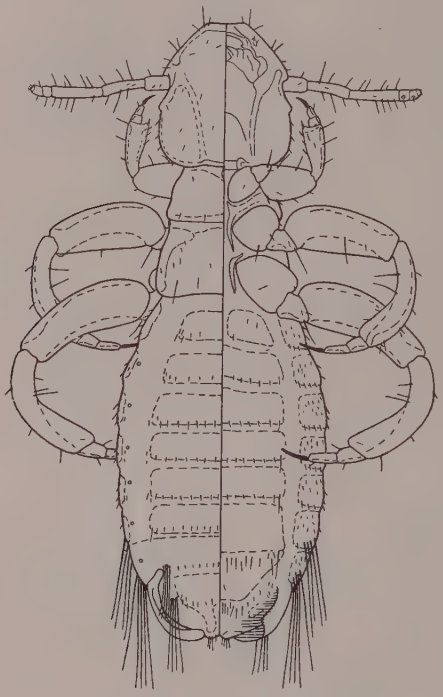


Fig. 63
Eutrichophilus moojeni, fêmea

Tórax tão longo e largo quanto à cabeça, aparentemente formado por dois segmentos, devido à redução do mesonotum. Protórax trapezoidal, com a margem anterior pouco menor que a posterior: metatórax subretangular. Pêlos escassos; alguns, curtos, esparsos na face superior do tórax; outros, maiores, em menor número, ao longo da borda posterior do metatórax. Na face inferior do tórax se encontram dois escleritos semilunares junto aos quadris posteriores.

Membros anteriores normais; os outros de tipo diferente, sem acentuada dilatação das extremidades distais das tíbias, providas de esporões opostos aos tarsos. Êstes membros são consideràvelmente mais longos que os do primeiro par, sobretudo os posteriores, ainda mais longos que os medianos.

Abdome longo, oval, tendo de comprimento mais de metade do comprimento total do inseto e de largura máxima mais de metade de seu próprio comprimento. Placas tergais, pleurais e esternais em todos os segmentos típicos, com filas regulares de pêlos curtos ao longo

das respectivas margens posteriores. Além dêstes, se encontram pequenos pêlos irregularmente disseminados pelos pleuritos e quatro grupos de longas cerdas, de cada lado do têrço posterior do abdome: os dois primeiros, implantados nos pleuritos correspondentes ao penúltimo e ao último par de estigmas respiratórios; os demais na face tergal dos dois últimos segmentos do abdome.

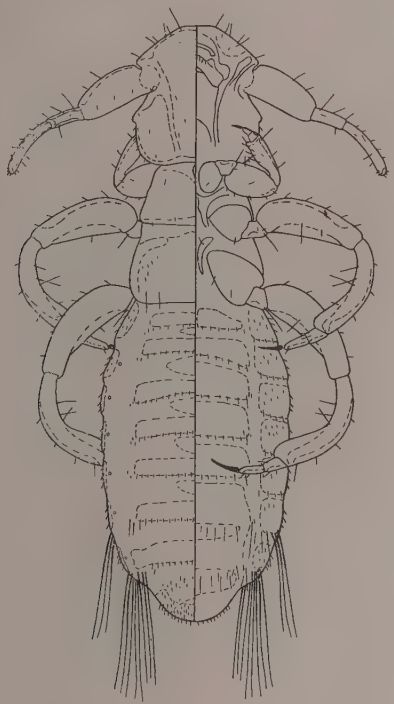


Fig. 64
Eutrichophilus moojeni, macho

Seis pares de estigmas respiratórios abdominais, de diâmetro mui pequeno.

Região genital (fig. 67) com duas grandes gonopófises, de margens internas guarnecidas de cerdas longas, e um grupo mediano de pêlos, longos também, no lóbulo subgenital. Na metade posterior das gonopófises, a margem interna dêstes apêndices formam um ângulo reto, do que resulta um lóbulo e o estreitamento de sua extremidade livre. Esta última, quando as gonopófises se acham coladas ao abdome, repousam sôbre sua face superior.

Macho (fig. 64). Comprimento: 2.30 mm.

Difere da fêmea por alguns caracteres sexuais secundários, dos quais o tamanho e a forma das antenas é o que mais atenção disperta.

Cabeça (fig. 66) com a porção pre-antenal mais curta e margens anterolaterais mais divergentes.

Antenas grandes, robustas, com três segmentos. O primeiro e o terceiro aproximadamente do mesmo comprimento; aquêle, porém, com diâmetro cêrca de três vêzes maior. O segundo, apenas mais grosso que o terceiro, é de todos o mais curto.

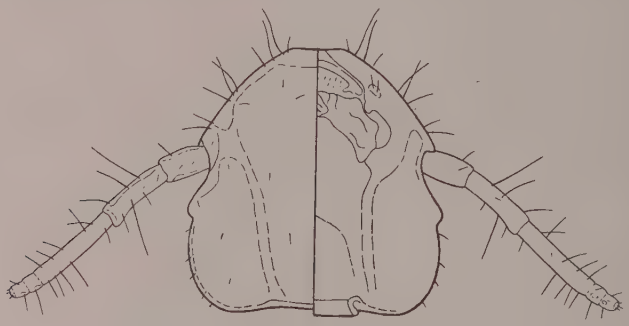


Fig. 65
Eutrichophilus moojeni, cabeça da fêmea

O abdome difere do da fêmea quase exclusivamente pela forma arredondada da extremidade posterior. Placas tergais duplas. Longas cerdas marginais reunidas em dois grupos e não em quatro, como na fêmea. Parece que o último dêstes grupos, corresponde aos dois grupos de cerdas existente ao nível do sexto estigma abdominal da fêmea. Mas, inquestionàvelmente, faltam ao macho as cerdas longas do último urotergito da fêmea.

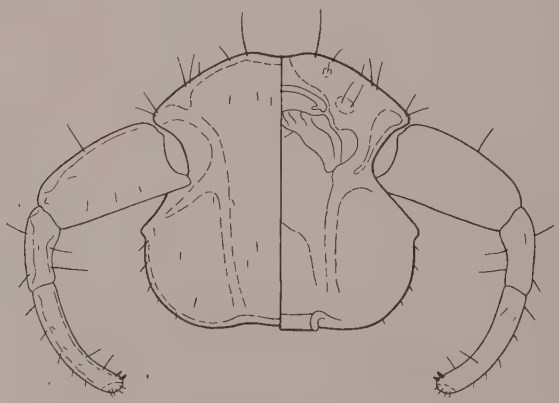


Fig. 66
Eutrichophilus moojeni, cabeça do macho

Aparelho copulador (fig. 68) de aspecto característico, embora formado das mesmas peças existentes nos das outras espécies do gênero. Placa basal curta e larga, tendo a extremidade proximal bifurcada e com os dois terços anteriores das márgens laterais paralelos e têrço posterior destas mesmas margens fortemente convergentes. Parâmeros ovais, articulados aos ramos terminais da placa basal pelas extremidades finas. Endômeros fortes, en-

curvados, com ponta livre voltada para dentro. Além destas peças principais, deve-se notar um esclerito mediano, entre os ramos distais da placa basal e uma faixa quitinosa aparente-

Fig. 67
Eutrichophilus moojeni, região genital da fêmea

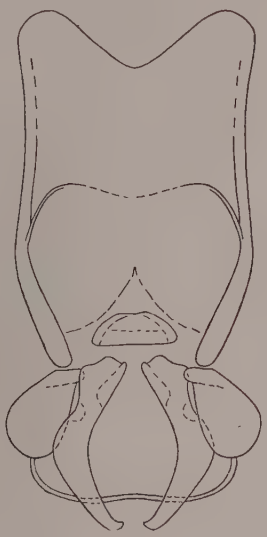


Fig. 68
Eutrichophilus moojeni, aparelho copulador do macho

mente reunindo as extremidades posteriores dos parâmeros, faixa esta dependente da vesícula pênis, como verificamos em trabalho de dissecção.

NOTA:

Eutrichophilus moojeni e *Eutrichophilus maximus* são, indubitàvelmente, duas formas aberrantes do gênero *Eutrichophilus*, devido ao grande desenvolvimento e a forma de seus membros medianos e posteriores, particularidade que permite distinguí-los, num relance, das demais espécies congenêricas. Mas, embora em ambas as espécies sejam êstes membros do mesmo tipo ambulatório, os de *Eutrichophilus moojeni* se aproximam mais do tipo comum aos tricodectídeos que os de *Eutrichophilus maximus*, onde as extremidades distais das tíbias e os dois tarsos têm pràticamente diâmetro idêntico. Assim, fôsse êste o único caráter a ser considerado, *Eutrichophilus moojeni* se colocaria como forma intermediária entre *Eutrichophilus maximus* e seus companheiros de gênero.

Ao tratar de *Eutrichophilus maximus*, procuramos explicar a causa das modificações em aprêço, atribuindo-as ao grande diâmetro dos pêlos do hos-

pedador que torna impossível a existência de membros preênsis. Interessante é verificar que por motivo inteiramente diferente — a escassez de pêlos — modificação idêntica pode surgir entre malófagos, tal como sucede em *Haematomysus elephantis*, cujos membros se assemelham aos de *Eutrichophilus maximus*. Em qualquer dos casos — diante de pêlos que não pode apreender ou na ausência de pêlos a serem apreendidos — o parasito se encontra em condição idêntica, que conduz à mesma adaptação.

De mais difícil explicação é a presença, tanto em *Eutrichophilus moojeni* como em *Eutrichophilus maximus*, de membros anteriores normais. O malófago do elefante usa de tôdas as pernas para caminhar e tôdas elas são, conseqüentemente, do tipo ambulatório. Mas que emprêgo farão *Eutrichophilus maximus* e *Eutrichophilus moojeni* de seus membros anteriores? E' certo que só a observação de parasitos vivos permitirá responder esta questão, sem o perigo de meras conjecturas. Todavia, por analogia ao que se passa nos anópluros com membros anteriores de tipo diferente dos demais, é lícito presumir que tenham função especializada, como a adaptação parasitária freqüentemente reserva aos membros anteriores. O *Phthirus pubis*, por exemplo, usa das patas dianteiras para buscar os pêlos e trazê-los ao alcance das patas medianas e posteriores, capazes de os segurar. São, assim, estas últimas as únicas empregadas na locomoção propriamente dita, sendo as anteriores destinadas, apenas, a possibilitá-la.

Outra particularidade característica de *Eutrichophilus moojeni* é a ausência da goteira habitualmente existente na face inferior da cabeça dos tricodectídeos, destinada a alojar os pêlos dos mamíferos em que vivem, aos quais se fixam, a seguir, com auxílio das mandíbulas. Em seu lugar talvez se encontre vestígios seus, mas uma goteira funcional falta por completo, fato que também pode ser atribuído a excessiva espessura dos pêlos do hospedador, requerendo alterações incompatíveis com as dimensões da cabeça. E' possível, senão provável, que existam outros *Eutrichophilus* que, sob êste ponto de vista, possam ser assemelhados a *Eutrichophilus moojeni*. Resta, porém, descobrí-los, pois todos os conhecidos são dotados da referida goteira, cuja ausência constitui fato extremamente raro nos malófagos da família *Trichodectidae*. No momento, nos lembramos de um único exemplo: *Damalinia conectens* HOPKINS.

A semelhança entre *Eutrichophilus moojeni* e *Damalinia conectens* constitui, a nosso ver, a revelação mais importante adquirida com o conhecimento da primeira destas espécies. Ambas são desprovidas de goteira cefálica, ambas possuem membros do tipo ambulatório, antenas longas, gonopófises semelhantes. *Damalinia conectens* possui, mesmo, cerdas nos últimos segmen-

tos abdominais que lembram as longas cerdas características do gênero *Eutrichophilus*. Parece-nos que a verificação de aberrações idênticas em malófagos de coendídeos e de ungulados, é mais uma eloquente prova da semelhança existente entre tais parasitos.

Além dos caracteres já referidos, *Eutrichophilus moojeni* apresenta um outro ao qual atribuímos particular interêsse, seja a segmentação do terceiro artículo antenal da fêmea, de regra existente nos malófagos dos procaviídeos. Vemos aí uma prova adicional da mencionada semelhança.

Para simples efeito de identificação, porém, vários outros caracteres podem ser usados com vantagem: forma do aparelho copulador do macho, etc. O nome da espécie, ora descrita, é dado em homenagem ao mamalogista do Museu Nacional do Rio de Janeiro, Dr. João Moojen de Oliveira, que nos facultou a coleta dos espécimes usados neste trabalho, em hospedador por êle determinado.

Résumé

On sait que la plupart des mallophages vivant sur les rongeurs appartiennent à la famille *Gyropidae;* quelques uns, cependant, qui se trouvent sur les porcs-épics et les "pocket-gophers" d'Amerique, sont des trichodectidés.

Au cours de nos travaux, nous avons eu l'opportunité non seulement de collectionner un grand nombre de ces derniers mais aussi d'examiner ceux qui font partie des collections déposées à l'Université de Stanford et au Muséum de Washington, y compris les types de plusieurs espèces. Nous nous sommes rendu compte en même temps, qu'il serait utile de publier un travail sur l'ensemble de ces parasites, dont l'étude laissait fort à désirer, et nous avons décidé la publication de nos recherches, sans espérer, évidemment, faire paraitre une oeuvre definitive.

Nous avons apporté le plus grand soin à l'identification et à la description des anciennes espèces, de façon à permettre à ceux qui n'ont pas accès aux collections de poursuivre l'étude de ces mallophages sur des bases solides, sans engendrer la confusion causée par la description au hasard de nouvelles espèces. Et nous croyons avoir réussi le plus souvent.

Certes, il nous a été impossible de reconnaître *Geomydoecus expansus;* il y a des restrictions à faire au sujet de l'identification de *Geomydoecus californicus.* mais sur toutes les autres identifications il n'y a guère de doute.

Les trichodectidés des rongeurs se partagent en deux groupes, que nous considérons, pour l'effet de l'application de la nomenclature zoologique en usage, comme des genres differents: *Geomydoecus* et *Eutrichophilus*.

Les espèces du genre *Geomydoecus* se rapprochent des mallophages des carnivores et celles du genre *Eutrichophilus* des mallophages des ongulés. Il y a, donc, une difference immense entre elles. Dans ces conditions, si on se bornait aux trichodectidés des rongeurs, les deux genres ne pourraient qu'être admis. Mais en tenant compte de toute la famille, nous ignorons si *Eutrichophilus* est en réalité un genre admissible. Ses espèces sont reconnues par une série de particularités dont aucune n'est constante ni exclusive. Il manque aussi d'homogénéité.

Par contre, *Geomydoecus* correspond tout-à-fait à l'idée que nous nous faissons d'un genre. C'est donc, à notre avis, un genre parfait.

Relatório da excursão do Instituto Oswaldo Cruz ao Rio Paraná (Porto Cabral), em março e abril de 1944

por

Lauro Travassos

Partimos do Rio no dia 12 de março às 19,50 horas e chegamos à cidade de São Paulo às 15,15 hs. do dia seguinte, após fazermos 3 baldeações. Permanecemos em São Paulo até o dia 17 organizando os últimos preparativos e providenciando a remessa do material para Pôrto Epitácio na Estrada de Ferro Sorocabana. Deixamos São Paulo no dia 17 às 8,30 hs. e fomos chegar a Presidente Epitácio do dia 18 às 13 horas. A distância entre a cidade e o pôrto é de cêrca de 1 km em estrada arenosa sendo difícil o transporte do material da estação para o pôrto. Na mesma tarde tomamos o vapor Tibiriçá que seguiu rio abaixo às 20 horas. No dia 19 às 4,30 hs. chegamos a Pôrto Cabral. O dia 19 foi inteiramente ocupado com a instalação de barraca para pernoite e do laboratório para os trabalhos de necropsias. Embarcamos de regresso no dia 20 de abril às 20,30 hs. e chegamos a Pôrto Epitácio ao meio dia de 21. Neste mesmo dia seguimos de trem com destino a São Paulo. Tendo embarcado no trem da Sorocabana às 16,30 do dia 21 chegamos a São Paulo no dia 22 às 21 hs. Os dias 23 a 25 foram ocupados em receber as bagagens da Sorocabana e despachá-las para o Rio. Partimos de São Paulo no dia 26 às 7,30 hs. e chegamos ao Rio às 21 horas.

Durante a permanência de 31 dias em Pôrto Cabral fizemos várias excursões aos pequenos rios tributários do Paraná-Ribeirão dos Insetos, na margem paulista e Ribeirão Quiteroi na margem matogrossense e várias outras nas florestas virgens dos arredores de Pôrto Cabral. Nesta viagem fomos acompanhados exclusivamente pelo auxiliar de Laboratório Antônio Rocha Nobre, mas trabalhamos em conjunto com uma comissão do Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo constituída pelos Dr. Lauro Travassos Filho, Messias Carrera e Emílio Dente. Esta comissão tinha por objetivo estudos entomológicos. Graças a compreensão e camaradagem da comissão do Departamento de Zoologia foi possí-

* Recebido para publicação a 6 de dezembro de 1945 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

vel fazer uma ótima cooperação da qual resultou uma rendosa coleta de material entomológico para ambas as expedições. A captura de animais para necropsia foi reduzida não obstante a boa vontade do Sr. Antônio Moreira caçador e pescador profissional na zona. A vasante diminuiu o pescado no rio e ausência de frutos nas floresta não atraía a fauna para as margens do rio. Sòmente foi possível necropsiar 208 animais ou seja uma média de 7 por dia útil. Graças a gentileza e cativante hospitalidade do Capitão de Mar e Guerra Heitor Pereira da Cunha, proprietário das terras na localidade de Pôrto Cabral tivemos tôdas as facilidade e conforto possível durante a permanência naquela localidade.

Pôrto Cabral é uma pequena clareira de cerca de 100 hectares aberta na imensa floresta virgem da margem paulista do rio Paraná. Fica inteiramente isolada de qualquer outro povoada sendo o mais próximo acêrca de 8 quilômetros, rio acima. Não existe telégrafo na região e o único meio de comunicação com outras povoações é por via fluvial havendo navio uma vez por semana. A população da localidade era constituída por cêrca de 15 pessoas que se ocupavam na extração de madeiras, com pequena lavoura e uma incipiente criação de gado. Os homens levantavam-se ao clarear do dia para preparar as refeições e partiam para à floresta cêrca de 8 hs. da manhã, sòmente regressando cêrca de 16 hs. Os carreiros seguiam logo acompanhados pelos bois utilizados no transporte das toras. Na localidade existiam apenas 3 mulheres: a Senhora do odministrador e mais duas outras casadas com trabalhadores. Na margem matogrossense, acêrca de 4km. em linha reta mora, inteiramente isolado, um casal: o Sr. Antônio Moreira e sua jovem companheira que ainda não contava 20 anos. Viviam da pesca, da caça e de pequena lavoura habitando minúsculo casebre na margem do rio. Os vizinhos mais próximos eram os de Pôrto Cabral dos quais estacam separados pelo correntoso Paraná cuja travessia em canoa levava quase duas horas, com bom remador e sem vento. Moreira, homem de cêrca de 45 anos, branco e conhecedor de vastas zonas do nosso país tinha em seu sítio alguns porcos e galinhas e um casal de cachoros indispensáveis na defesa de sua modesta criação sempre atacada pelas onças e jaguatiricas. A sua jovem companheira, de origem paraguaia e com muito sangue amerindio seguia-o em tôdas as caçadas e pescarias ajudando-o. Um outro curioso morador da região era Américo, iugoslavo e empregado da propriedade. Homem amável, de cêrca de 37 anos que residia no extremo da fasenda, em um rancho que mal cabia a tarimba onde dormia e o pequeno e improvisado fogão, situado em uma clareira da floresta que não tinha mais de 100 m de diâmetro e distando 8 km da povoação principal e com comunicação exclusivamente por via panhia e que servisse para lhe dar aviso da aproximação das feras da imensa fluvial. Êste homem vivia aí inteiramente só, sem mesmo um cão por com-

pania e que servisse para lhe dar aviso da aproximação das feras da imensa floresta. Fazia pequena lavoura e pescava na margem do rio exclusivamente para seu uso. A sua principal alimentação era trazida de Pôrto Cabral onde ia semanalmente se prover. Tinha como arma defensiva um velho rifle já descalibrado.

A constituição do solo varia muito da margem paulista para a de Mato Grosso. A primeiro é alta e de solo arenoso, muito permeável e frouxo, inteiramente semelhante a formação de Bauru e revestida de floresta virgem rica em madeiras de lei. Esta floresta, porém, não apresenta a pujança das florestas da Serra do Mar, não se encontrando nela as gigantescas árvores das florestas do litoral devido a pouca resistência do solo e a ação dos fortes ventos que se insinuam pelo vale do rio. As maiores árvores são representadas pelos jatobás que se localizam perto da barranca do rio. Existem muitas perobas e ipés de grandes trancos, mas estas árvores têm copas muito reduzidas, o que permite resistirem aos efeitos do vento não obstante a pouca resistência do solo. Na floresta não existem quase bromeliáces epidendras, sendo as plantas arboricolas representadas por algumas orquidáceas e cactáceas. Existem, porém, muitas bromeliáces e cactáceas terrestres, algumas destas últimas de grande porte com troncos de mais de 30 centimetros de diâmetro. Estas florestas são ricas em árvores frutíferas: jaboticabeiras, grumixameiras, pitangueiras, etc., que na época da frutificação atraem uma abundante fauna de mamíferos e aves.

A margem matogrossense é baixa e alagadiça, sendo inundada na ocasião das cheias. Existem aí estensos pantanias impenetráveis ao homem e ao gado e abrigo seguro das antas e onças. A vegetação é a característica das regiões pantanosa, baixa e estremamente serrada, de dificílima penetração. Sòmente existem árvores nas margens dos pequenos córregos que conduzem as águas do rio para os banhados na cheia e dos banhados para o rio na vazante. A fauna também é diversa nas duas margens. Na paulista habitam os porcos do mato, cutias e tatus e as aves de hábitos terrestre ou arboricolas. Na matogrossense as antas, capivaras e aves limícolas. As aves de vôo amplo vão onde existam frutos. A fauna entomológica é abundante nas duas margens apenas os simulídeos são peculiares a margem paulista. A pesca que é abundante na cheia torna-se escassa na vasante.

A vida do homem é dura e sem confôrto sendo tôdas as utilidade adquiridas por preços exorbitantes. A ocupação quase exclusiva dos habitantes das margens do Paraná é a extração de madeiras, principalmente de peroba e cedro. A reduzida população de Pôrto Cabral estava na totalidade atacada de impaludismo. Tivemos notícia de um caso de "fogo selvagem" em uma menina de 5 anos nascida na localidade e que de lá nunca tinha saído

antes de adoecer. Esta doentinha foi removida para a cidade de São Paulo e internada no Hospital Ademar de Barros dirigido pelo Dr. João Paulo Vieira. Quando de regresso fomos visitar o Hospital e examinamos pessoalmente a doente. Infelizmente tratava-se de um caso grave desta horrível moléstia.

Os insetos hematófagos são muito abundantes e representados por culicídeos, tabanídeos e simulídeos, êstes, porém, sòmente na margem paulista. A criação de suínos em tôrno das habitações torna muito abundante as tungas.

Tivemos oportunidade de observar um surto de peste da "manqueira" na incipiente criação existente em Pôrto Cabral e necropsiamos dois animais vitimados por esta molestia. Os porcos e as galinhas são pouco parasitados.

Na época de nossa permanência a fauna de vertebrados era bastante escassa por não ser tempo de frutos na floresta. A pesca também, pois, o rio estava em vasante. A fauna entomológica extremamente abundante no verão estava também muito reduzida. Mesmo os culicídeos e simulídeos não eram tão abundantes como era de esperar. As caçadas a noite com auxílio do foco luminoso foram sempre muito pouco rendosas. Sòmente as capturas com isca e no aparêlho de Shannon foram bastante produtivas.

RESUMO DO MATERIAL COLETADO

Animais necropsiados 208, sendo:

mamíferos 25, de 9 espécies ou 12,2%.
aves 40, de 23 espécies ou 19,2%.
répteis 6, de 4 espécies, ou 2,8%.
peixes 137, de 9 espécies, ou 65,8%.

Ao todo foram examinados vertebrados de 45 espécies diversas.

Estas necropsias forneceram 156 amostras de helmitos dos quais eram:

nematódeos 117 ou 56,2%
trematódeos 13 ou 6,2%
cestódeos 16 ou 7,6%
acantocéfalos 10 ou 4,8%

O parasitismo dos vertebrados era distribuídos do modo seguinte:

nematódeos em 94 indivíduos ou 45,1% dos animais examinados
trematódeos 11 indivíduos ou 5,2%
cestódeos 17 ou 8,1%
acantocéfalos 10 ou 4,8%

Dos mamíferos 11 ou 44% estavam parasitados; das aves 21 ou 52.4%; dos répteis 1 ou 16,6%; dos peixes 72 ou 52,5%.

Os mamíferos eram parasitados do modo seguinte:

com mematódeos 10 ou 40% dos mamíferos.
com trematódeos 2 ou 8%
com cestódeos 5 ou 20%
com acantocéfalos 1 ou 4%

O parasitismo das aves era distribuído do modo seguinte:

com nematódeos 15 ou 37,5% das aves
com trematódeos 4 ou 10%
com cestódeos 8 ou 20%
com acantocéfalos 1 ou 2,5%

Dos 6 répteis um estava parasitado com cestódeos e acantacéfalos os outros não eram parasitados.

Os peixes eram parasitados do modo seguinte:

com nematódeos 69 ou 50,3%
com trematódeos 5 ou 3,6%
com cestódeos 3 ou 2,1%
com acantocéfalos 7 ou 5,1%.

LISTA SISTEMÁTICA DOS ANIMAIS EXAMINADOS E REFERÊNCIA SÔBRE SEU PARASITISMO COM HELMINTOS

VERTEBRATA

MAMMÁLIA

Carnívora

Felidae

Leopardus pardalis brasiliensis (Oken). (1)

Um exemplar examinado sob o n.º 9908. Estava parasitado com *Dirofiaria* sp., *Sparganum* sp. no tecido subcutâneo e com Ascarídeos e cetódeos no intestino delgado. *Oncicola* sp. no grosso intestino.

Rodência

Sciuridae

Guerlinguetos inghrami (Thom.) (2)

Dois exemplares sob os ns. 9.705 e 9.719. Não parasitados.

Caviidae

(1) Carlos Vieira det.
(2) J. Moojen det.

Cavia aperea Erxl. (1)

Um exemplar sob o n.º 9.703 parasitado com *Tricostrongylidae* no intestino delgado.

Hydrochoerus hydrochaeris (L.).

Um exemplar sob o n.º 9.704 parasitado com *Dirofilaria* sp. no tecido conjuntivo, *Habronema clarki* Foster & Chitwood, 1937 e *Capillaria hydrochoeri* Travassos, 1916 no estômago, *Viannella hydrochoeri* (Trav., 1914) e *Anoplocephalidae* no intestino delgado; *Hippocrepis hippocrepis* (Diesing, 1850), *Taxorchis schistocotyle* (Fischoeder, 1901) e *Protozoophaga obesa* (Diesing, 1851) no grosso intestino.

Leporidae

Sylvilagus brasiliensi (Bris.), 3 exemplares sob os ns. 9.720, 9.721 e 9.858. Um estava parasitado com *Trichostrongylidae* e 2 não estavam parasitados. Dois exemplares eram fêmeas, uma estava prenhe e o outro amamentava.

Muridae

Rattus rattus rattus (L.) (1)

Desta espécie examinamos 10 exemplares sob os ns. 9.845, 9.846, 9.856, 9.857, 9.874, 9.900, 9.902, 9.903, 9.904 e 9.907. Não estavam parasitados.

Ungulata

Tapiridae

Tapirua terrestris (L.)

Um exemplar sob o n.º 9.873. Estava parasitado com *Physocephalus nitidulans* (Schneiber, 1866) no estômago; com cestódeos e *Monodontus nefastus* Trav. 1937, no intestino delgado; *Cladorchis pyriformis* (Diesing, 1838); *Murshidia monosticha* (Diesing, 1851) e *Kiluluma longipene* (Molin, 1861) no grosso intestino. Era fêmea e estava prenhe.

Cervidae

Mazama americana Erxl.

Quatro exemplares sob os ns. 9.706, 9.907, 9.863 e 9.872. Dois estavam parasitados com *Pereirai lassacei* (Trav. 1921); 3 tinham filarideos na cavidade abdominal; 2 com *Gongylonema* sp. no esofago; 2 com *Cysticercus tenuicolis* no epiplon. Um exemplar era feminino e estava prenhe.

(1) J. Moojen det.

Bovidae.

Bos taurus dom L.

Examinamos dois exemplares jovens que haviam morrido de peste de cadeira sob os ns. 9.737 e 9.789. Os dois exemplares estavam parasitados com *Haemonchus similis* Trav. 1914 e *Bustomum phlebotomum* (Railliet, 1902). Um tinha ainda *Cooperia punctata* (v. Linstow, 1907), *Trichuris ovis* (Abilgaard, 1793), *Bosicola radiata* (Rudolphi, 1803) e *Setaria* sp.

AVES

Phalacrocoracidae

Phalacrocorax olivaceus olivaceus (Humbold).

Examinamos 3 exemplares sob os ns. 9.880, 9.898 e 9.905. Todos parasitados com *Ascaroidea* no estomago, 2 com cestoideos no intestino delgado. 1 com trematodeos *Strigeoidea* e outro com acantocefalos.

Ardeidae

Butorides striatus striatus (L.)

Dois exemplares sob os ns. 9.772 e 9.875. Ambos tinham *Ascaroidea* no estomago, e um *Clinostomum marginatum* (Rudolphi, 1819) na cavidade bucal, um com *Eustrogylides* sp. em galerias na parede do estomago e outro com cestodeos no intestino delgado.

Tigrisoma lineatum marmoratum (Vieil.)

Um exemplar sob o n.º 9.897, parasitado com *Clinostomum detruncatum* Braun, 1899, na cavidade bucal. *Ascaroidea* no estomago e *Eustrongylides* sp. no estomago, *Strigiodea* no intestino delgado.

Anatidae

Cairina moschata (L.)

6 exemplares sob os ns. 9.802, 9.806, 9.861, 9.864, 9.865 e 9.879. Não estavam parasitados.

Accipitridae.

Rupornis magnitostris magniplumes (Bertoni).

Um exemplar sob o n.º 9.899 parasitado com *Ascaroidea* no intestino delgado.

Falconidae

Milvago chimachima chimachima (Vieill.)

Um exemplar com um quisto de nematoideos na cavidade geral.

Phasianidae

Gallus gallus domesticus L.

4 exemplares sob os ns. 9.768, 9.769, 9.790 e 9.853. Dois estavam parasitados com cestódeos no intestino delgado, dois não estavam parasitados.

Odontophorus capueira (Spix).

Um exemplar sob o n.º 9.855 não parasitado.

Laridae

Phaetusa simplex chloropoda (Vieill.)

Um exemplar sob o n.º 9.770 parasitado com cestodeos no intestino delgado.

Columbidae

Leptoplila rufaxila reicheubachi Pelz.

Um exemplar sob o n.º 9.867 parasitado com *Tetrameres* sp. no ventrículo.

Cucullidae

Piaya cayanea (L.)

Um exemplar sob o n.º 9.801 com nemas no tecido subcutâneo e no estômago.

Trogonidae

Trogonurus curucuia (Vieill.)

Um exemplar sob o n.º 9.866 não parasitado.

Alcedinidae

Megaceryle torquata torquata (L.)

Um exemplar sob o n.º 9.771 parasitado com *Pulchrosoma pulchrosoma* Travassos 1916, nos sacos aéreos e outra espécie de trematódeo.

Chloroceryle amazona (Latham).

5 exemplares sob os ns. 9.877, 9.878, 9.881, 9.882 e 9.883. Todos parasitados com filarídeos na cavidade geral, 2 com nematódeos na mucosa gastrica.

Chloroceryle americana (Gmelin)

Um exemplar sob o n.º 9.876 não parasitado.

Rhamphastidae

Rhamphastus toco Mueller

Dois exemplares sob os ns. 9.788 e 9.832 não parasitados.

Pteroglossus castanotus australis Cassin.

Dois exemplares sob os ns. 9.736 e 9.871 não parasitados.

Picidae

Celeus flavescens (Gmelin)

Um exemplar sob o n.º 9.884, com cestódeos no intestino delgado.

Tyrannidae

Syristes sibilator sibilator (Veill.)

Um exemplar sob o n.º 9.702, não parasitado.

Cotingidae

Pyroderus scutatus (Shaw.)

Um exemplar sob o n.º 9.868, não parasitado.

Corvidae

Cyanocorax cyanomelas (Vieill.)

Um exemplar sob o n.º 9.860, não parasitado.

Furnaridae.

Philydor lichtensteini Cabanis & Heine

Um exemplar não parasitado.

REPTILIA

Iguanidae

Tropidurus sp.

3 exemplares sob os ns. 9.738, 9.854 e 9.901. não parasitados.

Colubridae

Xenodom sp.

Um exemplar sob o n.º 9.859, não parasitado.

Spilotes pullatus (L.)

Um exemplar sob o n.º 9.811, não parasitado.

Erythrolamprus sp.

Um exemplar sob o n.º 9.833, parasitado com larvas de cestódeos e de acantocéfalos

PISCES

Characidae

Colossoma mitre Berg.

3 exemplares sob os ns. 9.715, 9.800 e 9.862. Todos os exemplares estavam parasitados com *Spectatus spectatus* Travassos, 1923, *Rondonia rondoni* Travassos, 1919 e várias espécies de *Paramphistomoidea*. Um tinha acantocéfalos.

Leporinus sp.

20 exemplares sob os ns. 9.708, 9.709, 9.710, 9.717, 9.724, 9.751, 9.752, 9.753, 9.754, 9.762, 9.763, 9.764, 9.765, 9.766, 9.767, 9.792, 9.841, 9.843, 9.891 e 9.892. 10 não estavam parasitados, 10 tinham nematódeos no intestino delgado.

Bricon hilari (Val.)

35 exemplares sob os ns. 9.711, 9,712, 9.713, 9.714, 9.725, 9.726, 9.727, 9.728, 9.729, 9.730, 9.731, 9.732, 9.733, 9.734, 9.735, 9.739, 9.740, 9.741, 9.742, 9.743, 9.744, 9.745, 9.746, 9.747, 9.748, 9.749, 9.750, 9.755, 9.756, 9.757, 9.758, 9.759, 9.760, 9.761 e 9.893. 5 estavam parasitados com acantocéfalos, 24 com nematódeos e 9 não estavam parasitados.

Myloplus laevis (Eig. & Mc Atee).

Um exemplar parasitado com nematóideos e trematódeos *Paramphistomoidea* no intestino.

Serrasalmus spilopleura Kner.

11 exemplares sob os ns. 9.718, 9.723, 9.799, 9.834, 9.835, 9.870, 9.885, 9.887, 9,888, 9.889 e 9.890. 5 estavam parasitados com nematóideos, 1 com acantocéfalos e 6 não estavam parasitados.

Salminus maxilosus Cuv. & Val.

Um exemplar sob o n.º 9.722, não parasitado.

Astianax (P.) bimaculatus (L.)

3 exemplares sob os ns. 9.783, 9.847 e 9.906. Todos estavam parasitados com nematóideos e cestódeos.

Pimelodus clarias (L.)

51 exemplares sob os ns. 9.773, 9.774, 9.775, 9.785, 9.786, 9787, 9.791, 9.794, 9.795, 9.796, 9.797, 9.798, 9.803, 9.804, 9.805, 9.806, 9.807, 9.808, 9.809, 9.810, 9.812, 9.813, 9.814, 9.815, 9.816, 9.817, 9.818, 9.819, 9.820, 9.821, 9.822, 9.823, 9.824, 9.825, 9.826, 9.827, 9.828, 9.829, 9.830, 9.831, 9.836, 9.837, 9.839, 9.840, 9.842, 9.844, 9.848, 9.849, 9.850, 9.851 e 9.852. 23 estavam parasitados com nematóides, 1 com trematódeo *Strigeoidea*. 28 não estavam parasitados.

MATERIAL ENTOMOLÓGICO

Foram coletados 6.645 insetos distribuídos do modo seguinte:

— DIPTERA 3.000, sendo

Culicidae 539 de 12 espécies determinados pelo Dr. Sebastião de Oliveira, a saber:

1) *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi*, Root, 1926 (11 ♀ ♀)
2) *Anopheles (Nyssorhynchus) tarsinaculatus* Goeldi, 1905 (1 ♀)
3) *Culex (Culex)* sp. (1 ♀).
4) *Taeniorhynchus (Taeniorhychus) indubitans* (Dyar et Shannon. 1925, (1 ♀)
5) *Taeniorhynchus (Rhynchotaenia) fasciolatus* Arribalsaga, 1891 (2 ♀)
6) *Aëdes (Conopostegus) leococaelenus* Dyar et Shannon, 1924 (8 ♀ ♀).
7) *Aëdes (Ochleroratus) fulvus* (Wiedeman, 1828) (2 ♀ ♀).
8) *Aëdes (Ochleroratus) scapularis* (Rondani, 1848) (62 ♀ ♀).
9) *Haemagogus (Haemagogus) capricornii* (Lutz, 1905) (52 ♀ ♀).
10) *Psorophora (Janthinosoma) albipes* (Theobald, 1907) (82 ♀ ♀).
11) *Psorophora (Janthinosoma) ferox* (Humboldt, 1820) (4 ♀ ♀).
12) *Psorophora (Janthinosoma) varipes* (Coquillett, 1904) (313 ♀ ♀).

Diptera Brachycera 2,461, estudados pelo Prof. H. Sousa Lopes, a saber:

Stratiomyidae . . . . . 2 exemplares

Cyphomyia weidemanni Gerst. — 1 ♀
Cyphomya aurifrons Wied. — 1 ♂

Tabanidae ..... 199 exemplares

Fidena castanea Perty — 1 ♀
Fidena sp. — 74 ♀ ♀, 3 ♂ ♂
Lepidoselaga crassipes Fabr. — 1 ♀
Diachlorus sp. — 114 ♀ ♀
Chlorotabanus impressus Wied. — 1 ♀
Tabanus luctuosus Macq. — 1 ♀
Tabanus (Neotabanus) sp.

Therevidae ..... 1 exemplar
Bombylidae ..... 6 exemplares
Asilidae ..... 4 exemplares

Erax striola Fabr. — 1 ♂, 1 ♀
Blepharepium sp. — 1 ♂
Doryclus sp. — 1 ♀

Dolichopidae ..... 6 exemplares

Neurigona sp. — 2 ♀ ♀
Condylostylus sp. 4 ♀ ♀

Syrphidae ..... 1755 exemplares

Xanthandrus bucephalus Wied. — 1 ♂
Epistophe sp. 1 ♂
Baccha flavipennis Wied. — 33 exemplares
Baccha livida Schin. — 1 ♂
Bacha sp. — 87 exemplares
Mesogramma tibicem Wied. — 399 exemplares.
Mesograma duplicata Wied. — 1 ♀
Volucella picta Wied. — 34 exemplares.
Volucella tricincta Bigot — 217 exemplares.
Volucella scutellata Macq. — 27 exemplares.
Volucella meretricias Will. 2 ♂ ♂
Volucella spp. — 603 exemplares.
Ornidia obesa Fabr. — 23 exemplares.
Ornidia major Curr. — 1 ♂, 1 ♀
Volosyrpha hirtipes Macq. — 2 ♀ ♀
Apophysophora scutellata Will. — 231 exemplares.
Nausigaster sp. — 1 ♀.

Conopidae ..... 1 exemplar

Stylogaster sp. — 1 ♂

Tachinidae ..... 213 exemplares

Telothyria sp. — 49 exemplares.
Belvosia spp. — 9 exemplares.

Rhiniidae . . . . . 19 exemplares

Mesembrinella bellardiana Ald. — 14 exemplares.
Mesembrinella bicolor Fabr. — 3 ♀ ♀
Mesembrinella sp. — 2 ♀ ♀

Sarcophagidae . . . . . 85 exemplares

Nephochaetopteryx spp. — 3 ♀ ♀
Tripanurga albicans Wied. — 1 ♀
Paraphrissopoda (E.) florencioi Prado & Fons. — 2 ♂ ♂, 16 ♀ ♀
Paraphrissopoda (E.) collusor Curr. & Wall. — 6 ♂ ♂, 2 ♀ ♀
Paraphrissopoda (E.) subducta Lap. — 1 ♂
Paraphrissopoda (P.) chrysostoma Wied. — 1 ♂
Sarcodexia sternodontes Towns. — 2 ♂ ♂, 1 ♀
Oxysarcodexia aurifinis Walk. — 1 ♂, 2 ♀ ♀
Oxysarcodexia diana Lop. — 2 ♂ ♂

Muscidae . . . . . 135 exemplares
Rhichardiidae . . . . . 1 exemplar

Automola automaria Wied. — 1 ♂

Ulidiidae . . . . . 5 exemplares

Euxesta sigma Hendel — 1 ♀
Euxesta sp. — 2 ♂, 1 ♀

Pterocallidae . . . . . 1 exemplar
Trypetidae . . . . . 2 exemplares

Hexachaeta socialis Wied. — 1 ♀
Anastrepha sp. — 1 ♂

Lonchaeidae . . . . . 2 exemplares
Rhopalomeridae . . . . . 19 exemplares

Willistoniella pleuropunctata Wied. — 15 exemplares.
Rhopalomera stictica Wied. — 2 ♀ ♀
Rhopalomera spp. — 2 exemplares.

Micropezidae . . . . . 2 exemplares

Taeniaptera lasciva Fabr. — 1 ♀

Neriidae . . . . . 18 exemplares

Longina abdominalis Wied. — 4 ♂ ♂, 4 ♀ ♀
Nerius sp. — 1 ♂, 8 ♀ ♀

Sepsidae . . . . . 1 exemplar
Lauxaniidae . . . . . 33 exemplares
Drosophilidae . . . . . 27 exemplares
Agromizidae . . . . . 1 exemplar

Chloropidae	4 exemplar
Ephydridae	2 exemplar
Clusiidae	2 exemplar

Odonata 40 exemplares de 9 espécies estudados pelo Dr. Newton Santos e incluídos nas coleções do Museu Nacional, a saber:

Odonata, Anisoptera, Libellulidae * — 34 exemplares.

Erythrodiplax sp. 3 ♂ ♂ (ns. 766, 767, 768) 3 ♀ ♀ (ns. 769, 770, 799).
Erythrodiplax latimaculata Ris, 1911 — 2 ♂ ♂ (772, 773), 2 ♀ ♀ (771, 774).
Dasythemis esmeralda Ris, 1910 — 1 ♂ (775).
Dasythemis mincki (Karsch, 1890) — 6 ♂ ♂ (776, 777, 778, 779, 780, 781), 2 ♀ ♀ (782, 783).
Diastatops obscura (Fabr. 1775) 1 ♂ (784).
Diastatops intensa Montgomery, 1940 — 12 ♂ ♂ (785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 795, 796, 797) 1 ♀ (794).
Brechmorhoga nubecula (Rambur, 1842) 1 ♂ (798).

Odonata, Zygoptera, Megapodagrionidae: 5 exemplares.

Heteragrion sp. — 4 ♂ ♂ (800, 802, 803, 804) 1 ♀ (801).

Odonata, Zigoptera, Coenagrionidae: 1 exemplar.

Acanthagrion sp. — 1 ♂ (805).

HEMÍPTERA e HOMÓPTERA. 141 exemplares estudados pelo Dr. H. Lent, a saber:

Homóptera	7 exemplares
Hemíptera	134 exemplares
Sendo: Pentatomidae	12 exemplares
Coreidae	78 exemplares
Cydinidae	2 exemplares
Scutelleridae	4 exemplares
Pyrrhocoridae	1 exemplar
Miridae	5 exemplares
Lygaeidae	5 exemplares
Reduviidae	23 exemplares
Sendo: Reduviinae	14 exemplares
Microtominae	2 exemplares
Zelinae	4 exemplares
Apiomerinae	8 exemplares

LEPIDÓPTERA ..... 1.880 exemplares

Sendo Heterócera 159 exemplares de cêrca de 62 espécies.

Rhopalócera 1.721 de cêrca de 151 espécies.

Insetos de outras ordens 1.584 estudados pelo Prof. H. de Sousa Lopes, a saber:

HYMENOPTERA	483 exemplares
Ichneumonidae	8 exemplares
Scoliidae	3 exemplares
Thyniidae	6 exemplares
Mutiliidae	7 exemplares
Formicaridae	17 exemplares
Vespidae	95 exemplares
Psammocharidae	10 exemplares
Sphecidae	14 exemplares
Bembicidae	22 exemplares
Andrenidae	48 exemplares
Megachilidae	6 exemplares
Podaliriidae	18 exemplares
Bombicidae	6 exemplares
Apidae	113 exemplares
Indeterminadas	10 exemplares
COLEÓPTERA	248 exemplares
Hydrophilidae	1 exemplar
Silphidae	2 exemplares
Staphyllinidae	6 exemplares
Lycidae	3 exemplares
Elateridae	4 exemplares
Histeridae	4 exemplares
Coccinellidae	7 exemplares
Tenebrionidae	1 exemplar
Lamiidae	36 exemplares
Ceranbycididae	30 exemplares
Eumolpidae	3 exemplares
Galerucidae	2 exemplares
Halticidae	9 exemplares
Cassididae	1 exemplar
Brentidae	7 exemplares
Curculionoidea	53 exemplares
Passalidae	1 exemplar
Scarabaeidae	68 exemplares
Rutilidae	2 exemplares
Dynastidae	2 exemplares
Indeterminadas	7 exemplares
ORTHÓPTERA	67 exemplares
Acridódea	55 exemplares
Tettigonioidae	8 exemplares
Grylloidae	4 exemplares
BLATTARIA	2 exemplares
MANTODEA	1 exemplares

Estudos sobre a dosagem microbiológica das vitaminas do complexo B — I. Riboflavina

por

Gilberto G. Villela e Alberto B. Hargreaves

(Com dois gráficos no texto)

A necessidade da aplicação dos métodos microbiológicos ao estudo das vitaminas do complexo B cada dia mais se faz sentir. Atualmente já são conhecidos numerosos microorganismos servindo de reativo sensível para os diversos fatores do complexo B, quando cultivados em meios de composição bem estabelecida. A rapidez dos ensaios microbiológicos em relação aos testes biológicos praticados em animais, bem como a enorme economia de material e espaço para sua execução, fizeram com que êles, rapidamente adquirissem uma posição de destaque na técnica vitaminológica.

Foi partindo do estudo do metabolismo dos fatores de crescimento do lêvedo e posteriormente de outros organismos, tais os cogumelos e as bacterias, que nasceram estes métodos de dosagem sensíveis e específicos. O estudo detalhado sôbre a natureza complexa do "bios" e que culminou pelo isolamento da biotina, representa um atestado expressivo das aplicações praticas que se podem obter pelo emprego dos métodos microbiológicos. Os ensaios com lêvedos e outros cogumelos como o "Phycomyces Blakesleeanus" têm sido largamente empregados na determinação da tiamina (1) (2). Williams e seus colaboradores da Universidade de Texas criaram todo um sistema de dosagens microbiológicas que se tem mostrado de grande utilidade para o conhecimento da composição vitamínica dos tecidos animais e dos alimentos (3). Snell e Strong verificando que o "Lactobacillus casei" é um organismo que exige diversos fatores para o seu desenvolvimento, estudaram uma técnica de dosagem da riboflavina e depois do ácido pantotênico que se mostrou de grande valor para a determinação destas vitaminas nos meios biológicos (4).

Landy e Dicken fizeram estudos no sentido de simplificar as dosagens das vitaminas do complexo B empregando um mesmo meio de prova e um

* Recebido para publicação a 2 de janeiro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

mesmo microorganismo para todos os testes (5). No que diz respeito à dosagem da piridoxina o método dêstes autores não tem dados resultados satisfatórios porquanto o *L. casei* utiliza principalmente a pseudopiridoxina que se forma pelo aquecimento entre a piridoxina e alguns amino-ácidos (6). O teste para esta vitamina não é como a princípio se supôs suficientemente específico.

O "Lactobacillus casei" só se desenvolve em meio sintético especial, contendo todos os fatôres, quando a riboflavina fôr adicionada ao meio. O crescimento bacteriano e a produção de ácido é proporcional à quantidade de riboflavina presente no meio.

Foi nosso intuito estudar êste método não só no que diz respeito à riboflavina como também a outras vitaminas do complexo B e aplicá-lo à dosagem no plasma, extratos de fígado e de lêvedo. Verificamos também a possibilidade de modificar o meio de prova pela substituição de alguns elementos por outros de mais fácil obtenção entre nós. No presente trabalho serão sòmente indicados os resultados obtidos na dosagem da riboflavina.

O método biológico da medida do crescimento do rato só permite a dosagem em material contendo quantidades apreciáveis de riboflavina. A determinação química nem sempre oferece resultados satisfatórios quando se acham presentes outros pigmentos fluorescentes dificilmente removíveis. O método de SNELL e STRONG além de ser muito sensível é bastante específico, pois o "Lactobacillus casei" não produz crescimento apreciável com os fotoderivados da riboflavina. Bem que o "L. casei" seja muito exigente em fatôres de crescimento para que sejam satisfeitas as condições ótimas, foi possível conseguir um meio de prova de composição conhecida servindo para os ensaios das diversas vitaminas. Substituindo ao meio um dos elementos é possível obter respostas bastante significativas não só para a riboflavina como para os outros componentes ativos.

Parte experimental

A técnica por nós adotada foi a de SNELL e STRONG modificada em alguns pontos.

O "Lactobacillus casei" foi cultivado e mantido em meio de leite, sendo em alguns casos necessário adicionar a êste 0,1 microg de riboflavina para 1 ml do meio para que o desenvolvimento fôsse abundante. Os tubos com o leite depois de 24 horas foram conservados na geladeira e repicados mensalmente em meio de conservação composto de extrato de cevada a 6%, glicose a 0,2% e água. Neste meio as culturas se mantêm com bom crescimento. No dia anterior ao ensaio semeiam-se os tubos com o meio de prova contendo 0,1 microg de riboflavina para 1 ml do meio.

Meio de prova

Peptona fotolizada	20 ml
Cistina	20 ml
Extrato de lêvedo livre de riboflavina	2 ml
Glicose	2 g
Solução salina A	1 ml
Solução salina B	1 ml
Água destilada até	100 ml

Misturam-se as soluções de peptona fotolizada, cistina, extrato de lêvedo e as soluções A e B. Adiciona-se a glicose aquecendo-se a solução. Após dissolução completa da glicose esfria-se a solução e acerta-se o pH entre 6.6 e 6.8 com soda normal. Aquece-se em banho-maria a 70°C. O líquido de turvo passa a claro com pequenos flocos. Filtra-se e completa-se o volume para 100 ml com água destilada. O líquido filtrado fica perfeitamente límpido.

Peptona fotolizada

Pesam-se 40 g de peptona pura que se dissolvem em 250 ml de água destilada. Adicionam-se 250 ml de uma solução aquosa contendo 20 g de soda. Mistura-se bem e distribue-se o líquido em placas de Petri de 30 cm de diâmetro e 1 a 2 cm de altura. Iluminam-se as placas com uma lâmpada de 100 wts na distância de 30 cm durante 6 a 10 horas. Deixam-se ainda 18 a 14 horas (total de 24 horas) na temperatura ambiente. A solução é então neutralizada com ácido acético glacial (27,9 ml) e adicionada de 7 g de acetato de sódio anidro ou 9 g de acetato cristalizado. Dilui-se para 800 ml com água destilada. Usamos com bons resultados a peptona Geyer do Rio Grande do Sul. A solução de peptona é conservada na geladeira sob camada de tolueno.

Extrato de lêvedo livre de riboflavina

Pesam-se 500 g de lêvedo em pó que se suspendem em 5 litros de água destilada acidulada pelo ácido acético (pH 3.5 — 4.0). A suspensão fica em maceração durante 12 horas. Aquece-se a 100°C a fim de coagular as proteínas. Filtra-se e concentra-se o filtrado no vácuo até 250 ml. Êste contém cêrca de 50 g de matéria sêca (75 g de substância pastosa) correspondendo ao extrato autolizado de lêvedo Difco empregado por SNELL e STRONG. Ao filtrado juntam-se 75 g de acetato básico de chumbo dissolvidos prèviamente em 250 ml de água. Filtra-se e alcaliniza-se pela amônia até o pH de 10. com o azul de timol como indicador externo. Filtra-se. Acidifica-se novamente com ácido acético. O excesso de acetato de chumbo é retirado por meio de uma corrente de gás sulfídrico e o líquido é novamente filtrado. Tôda a riboflavina existente no lêvedo é, dêsse modo, absorvida pelo sulfu-

reto de chumbo. Completa-se o volume para 500 ml com água destilada. Conserva-se na geladeira sob camada de tolueno. Nestes ensaios usamos com bons resultados o lêvedo "Do L. C. S. A." do Rio de Janeiro.

Solução salina A

Fosfato monopotássico	5 g
Fosfato dipotássico	5 g
Água destilada	50 ml

Solução salina B

Sulfato de magnésio	10 g
Cloreto de sódio	0,5 g
Sulfato ferroso (7 H_2O)	0,5 g
Sulfato de manganês (4 H_2O)	0,5 g
Água destilada	250 ml

Solução de cistina

A solução de cistina é preparada de modo a conter 1 mg de cistina para cada 1 ml de solução de HCl N/1. Conserva-se na geladeira sob tolueno. Empregamos a l-cistina de Pfanstiehl.

Solução padrão de riboflavina

Faz-se uma solução contendo 10 mg de riboflavina em 100 ml de ácido acético a 0,02%. Conserva-se em frasco escuro, sob tolueno e na geladeira. Empregamos a riboflavina de Hoffman-La Roche.

Microorganismo

As amostras do "Lactobacillus casei" que serviram a êstes ensaios foram fornecidos por E. Snell, da Universidade de Texas, Estados Unidos, e classificadas com os números 393 e 7.469. Esta última foi a que nos forneceu melhores respostas, confirmando a observação recente de Campbell e Hucker (7).

Preparo dos tubos para o estabelecimento da curva padrão

Separa-se uma série de tubos de vidro Pyrex (15 cm x 1,8 cm ou 15 x 2 cm) onde se colocam 5 ml do meio de prova em cada tubo. Adicionam-se doses crescentes da solução de riboflavina diluída (1 ml para 9 ml de água, contendo 10 microgram. para 1 ml). Ao primeiro tubo deita-se 0,05 ml, ao segundo 0,1 ml e ao 3.º 0,15 ml até o 10.º tubo em que se coloca 0,5 ml. Têm-se quantidades que vão de 0,05 a 0,5 microg para 10 ml. da solução (ver

Quadro I). Adiciona-se água destilada a cada tubo para perfazer o volume de 10 ml. Os tubos são arrolhados e levados à autoclave a 110°C durante 10 minutos. Depois de frios são inoculados com a emulsão dos bacilos.

QUADRO I

DOSAGEM DA RIBOFLAVINA

DOSAGEM DA RIBOFLAVINA CURVA PADRÃO			EXTRATO DE LEVEDO		
ml por tubo	riboflavina em microg. por tubo	Volume gasto de NaOH 0.1N	ml por tubo	mg de levedo sêco	Volume de NaOH 0.1N em ml
		ml	0.4	4	2,6
0.05	0.05	2,1	0.6	6	3,8
0.10	0.10	3,5	0.8	8	5,1
0.15	0.15	5,3	1.0	10	6,1
0.20	0.20	6,1			
0.25	0.25	6,5			
0.30	0.30	7,0	EXTRATO DE FIGADO CONCENTRADO A 1:50		
0.35	0.35	7,4			
0.40	0.40	7,5	mg de substancia sólida	Volume de NaOH 0.1N ml	
0.45	0.45	7,6			
0.50	0.50	7,5			
			0,30	4,6	
			0,45	5,9	
			0,60	7,4	
			0,75	7,6	

	DOSAGEM FLUOROMETRICA	DOSAGEM MICROBIOLOGICA
	em 1 ml	
Extrato de fígado.....	20 microg.	24 microg.
Extrato de lêvedo.....	2,25 mg.	2,50 mg.

Preparo dos tubos para a dosagem

Numa série de tubos Pyrex das mesmas dimensões dos empregados para a curva padrão, são adicionados 5 ml do meio de prova e mais doses crescentes do extrato a dosar em quantidades que fiquem dentro do ramo ascendente da curva padrão, isto é, entre 0,05 e 0,30 microg de riboflavina por tubo. Completa-se o volume para 10 ml com água e leva-se a autoclave a 110°C durante 10 minutos. Depois de frios os tubos são semeados com a mesma emulsão que serviu para os tubos padrões. Preparam-se também dois tubos sem riboflavina para servir de testemunhas.

Semeadura

A cultura em meio de leite é semeada para o tubo de cevada (contendo 1 microg de riboflavina). Deixa-se 24 horas na estufa a 37°C. Repica-se para o meio de prova adicionado também de 1 microg. de riboflavina. Deixa-se

na estufa a 37°C durante 24 horas. Centrifuga-se a suspensão assèpticamente e lavam-se os bacilos 3 vêzes por centrifugação com a solução salina de NaCl a 0,85% esterilizada. Após a última lavagem, adicionam-se ao centrifugado bacteriano 12 a 13 ml da solução salina esterilizada. Esta suspensão é que vai servir para a inoculação dos tubos.

A semeadura faz-se com 1 a 2 gotas da suspensão bacteriana por tubo. A emulsão não deve ser por demais densa para não produzir uma prova em branco muito elevada. Os tubos depois de inoculados são levados à estufa a 37°C, onde permanecem 72 horas.

Leitura dos resultados

O líquido de cada tubo é passado para um balão de Erlenmeyer de 50 ml e adicionado de 0,5 ml do indicador azul de bromotimol. Lava-se o tubo com água que também é passada para o balão. Titula-se com a solução de soda 0,1 N até a viragem para o azul nítido. Em alguns casos, foi também determinada a turvação de cada tubo no fotocolorímetro Lumetron com o filtro 530. Nestes casos os ensaios foram feitos com tubos de dimensões menores que se adaptam diretamente ao aparelho sem precisar traspassar o líquido para o tubo do colorímetro. As leituras foram feitas no dia anterior à dosagem da acidez. A curva se vê na Fig. 1.

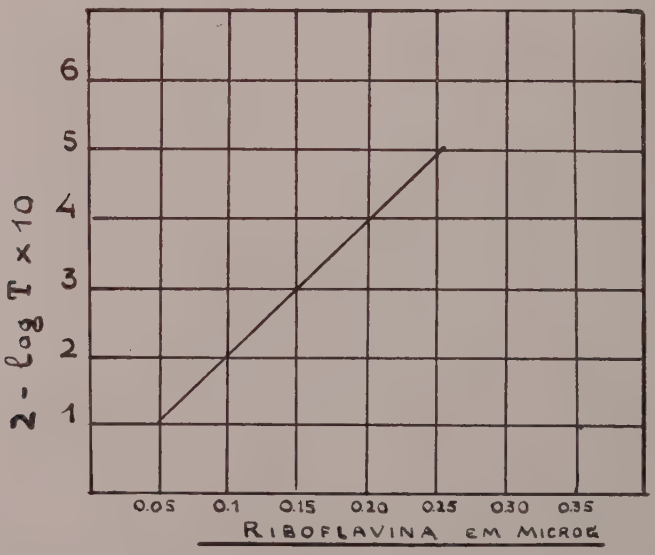


FIG. I

Relação entre a densidade ótica das culturas e a concentração em riboflavina

Dosagem nos extratos de fígado e de lêvedo

A dosagem da riboflavina foi por nós experimentada com a técnica acima para os extratos de fígado e de lêvedo, tendo-se obtido resultados bastante regulares que demonstram a perfeita aplicabilidade do método. Os resultados

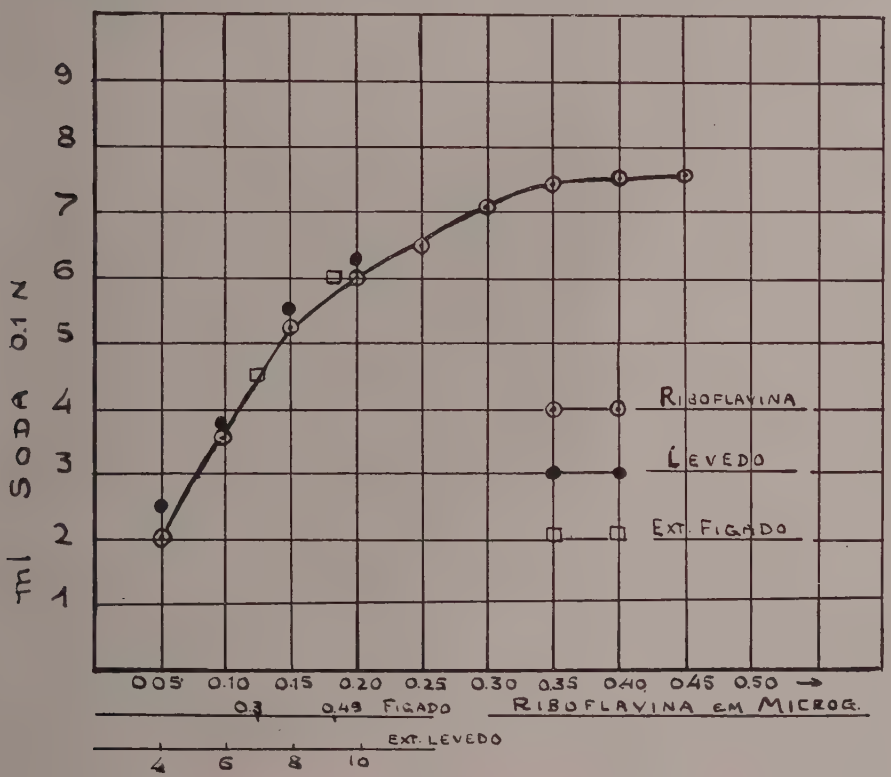


FIG. II

Resposta do "L. casei" às concentrações de riboflavina dos extratos de fígado e de lêvedo em comparação com a curva padrão de riboflavina

acham-se tabulados no Quadro I. Na fig. 2 reunimos as curvas obtidas com os extratos de fígado e de lêvedo em comparação com a curva padrão de riboflavina por nós estabelecida.

Os extratos são hidrolisados com HCl 0,1 N (5 a 10 vêzes o volume) e aquecidos na autoclave a 110°C durante 15 minutos. Com êste tratamento a fração combinada da riboflavina é completamente libertada.

Snell e Strong, para a dosagem no sôro de leite, precipitam as proteínas pela acidificação com ácido acético e aquecimento a 80-90°C. O filtrado serve para o ensaio. Como êste pode conter substâncias estimuladoras do crescimento do Lactobacilo além da riboflavina, convém ensaiar adicionando à curva padrão o filtrado fotolizado em meio alcalino. Se a produção de ácido fôr superior à da curva padrão com o sôro não fotolizado, é que existem substâncias estimulantes prejudiciais à dosagem. Para o fígado pode-se também fazer uma extração com 3 volumes de HCl 0,1N a quente durante 3 minutos. Filtra-se e neutraliza-se com soda e procede-se ao ensaio. O extrato fotolizado de fígado não estimula o crescimento do Lactobacilo.

Chaves e Ribeiro não obtiveram resultados satisfatórios pelo método de Snell e Strong aplicado à dosagem da riboflavina do extrato de leite (8). Entretanto, a curva por êles fornecida não é comparável à que se tem obtido com as mesmas quantidades de riboflavina; assim para 0,1 microg êles encontraram a produção de ácido titulável de 0,6 ml e para 0,3 microg a quantidade de 1 ml. Em nossos ensaios 0,05 microg já produz 2 ml e 0,3 microg cêrca de 7 ml de soda 0,1 N. Snell e Strong, bem como Landy e Dicken, dão valores de 2 a 8 ml de soda 0,1 N para as quantidades de riboflavina de 0,05 a 0,3 microg. Os valores referidos por Chaves e Ribeiro são comparáveis aos que se obtêm com as provas em branco (em tôrno de 1 ml de soda 0,1N) e por isso acreditamos ter havido engano na construção do gráfico e da tabela.

No caso de se trabalhar com material rico em amido, os extratos fotolizados apresentam ação estimulante. Scott, Randall e Hassel propuseram neste caso hidrolisar o amido pela takadiastase (9). O material diluído em HCl 0,1N (5 vêzes o volume) é primeiramente autoclavado a 110°C, 15 minutos e depois da temperatura ficar em 50°C o pH é acertado para 4 e a takadiastase é adicionada. Deixam-se 12 horas a 50°C e depois inativa-se a enzima pela fervura, acerta-se o pH para 6.6-6.8 e dilui-se o material com água. Usa-se uma parte aliquota para os ensaios.

Dosagem no sangue e na urina

Strong, Feeney, Moore e Parsons encontraram para o sangue total humano a média, pelo método microbiológico, de 0,49 microg/1 ml, para o de vitelo 0,44, de rato 0,45, de cão 0,97 e de porco 0,95 (10). Frazer e colaboradores referem para o sangue total de rato 0,22 a 0,63 microg para 1 ml. A verificação de Eckardt, Györgyi e Johnson de que o sangue total contém substâncias estimulantes para o crescimento do "Lactobacilus casei" veio mostrar que os dados até então referidos são mais elevados do que os reais (11).

Assim a adição de riboflavina ao sangue fotolizado determina maior crescimento do que a riboflavina pura. Mais recentemente, STRONG e colaboradores verificaram que as substâncias estimulantes do sangue podem ser extraídas pelo éter, álcool ou éter de petróleo nos pH de 1,5 a 10. Os filtrados alcoólicos de sangue contêm estas substâncias (9). O sangue depois de extraído pode ser usado nos ensaios microbiológicos.

Em trabalho recente, um de nós (12) encontrou no plasma de certas cobras brasileiras quantidades apreciáveis de riboflavina, identificada química e microbiològicamente. Foi obtida uma curva com as diluições do extrato desproteinizado do plasma que seguiu paralelamente à curva padrão. Os extratos foram preparados com o plasma livre de proteínas e tratados pelo éter de petróleo. Os valores obtidos variaram de 1,8 a 3,0 microg para 1 ml de plasma. Deve-se notar que os dados indicados pelos diversos autores para o sangue dos mamíferos referem-se ao sangue total e não ao plasma.

A urina também pode ser dosada pela técnica microbiólogica. Os ensaios fazem-se com a urina acida diluída com solução acetica. Os valores para a urina oscilam de 500 a 800 microg por dia para o indivíduo em dieta normal. Pela dosagem fluorométrica obtêm-se em geral valores maiores, mas a precisão é menor.

ABSTRACT

Studies on the microbiological assay of the vitamins of the B. complex. I. Riboflavin

The microbiological assay for riboflavin was employed for the determination in liver, yeast and plasma extracts. Snell and Strong's method was used and slight modifications were introduced for the preparation of the basal medium. Accurate results were obtained and the practical value of the method is discussed.

BIBLIOGRAFIA

1. — VILLELA (G. G.)

1938. Sôbre a dosagem da vitamina B_1 (aneurina) pela técnica de Schopfer. O Hospital, 13, 43.

2. — VILLELA (G. G.)

1944. Dosagem microbiológica das vitaminas. O Hospital, 26, 187.

3. — WILLIAMS (R. J.) e colaboradores.

1941. Studies on the vitamin content of tissues. The University of Texas Publication N.° 4.137.

4. — Snell (E. E.) e Strong (F. M.)

1939. Microbiological assay for riboflavin. Indust. Eng. Chem. (Anal. Ed.) 11, 346.

5. — Landy (M.) e Dicken (D. M.)

1942. A microbiological assay method for six B vitamins using Lactobacillus casei and a medium of essentially known composition. Jour. Lab. Clin. Med. 27, 1086.

6. — Carpenter (L. E.) e Strong (F. M.)

1944. Determination of pyridoxin and pseudopyridoxin. Arch. Bioch. 3, 375.

7. — Campbell (T. E.) e Hucker (G. J.)

1944. Riboflavin requirements of certain lactic acid bacteria. Food Research, 9, 197.

8. — Chaves (J. M.) e Ribeiro (O.)

1943. Dosagem da riboflavina em alimentos. An. Assoc. Quim. Brasil, 2, 91.

9. — Scott (M. L.) Randall (F. E.) e Hessel (F. H.)

1941. A modification of the Snell and Strong microbiological method for determining riboflavin. Jour, Biol. Chem. 141, 325.

10. — Strong (E. M.) Feeney (R. E.) Moore (B.) e Parsons (H. T.)

1941. The riboflavin content of blood and urine. Jour. Biol. Chem. 137, 363.

11. — Eckardt (R. E.) Györgyi (P) e Johnson (L. V.)

1941. Presence of a factor in blood which enhances bacterial growth activity of riboflavin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46, 405.

12. — Villela (G. G.)

1945. Identificação microbiológica da flavina do plasma de algumas cobras. Rev. Bras., 5, 113-115.

Incidência do reumatismo (febre reumática, reumatismo infecioso específico) no Rio de Janeiro

pelo doutor

A. Penna de Azevedo

(Com 1 gráfico no texto)

A febre reumática ou reumatismo infeccioso específico, desde épocas remotas e em muitos países, vem ocupando lugar de destaque entre os problemas médicos gerais. Ainda hoje, mais do que nunca, atrai a atenção de numerosos especialistas no intuito de esclarecer os principais aspectos da doença.

Muito justamente, é considerado o reumatismo um dos maiores flagelos que atacam o homem, acometendo, de modo predominante, a grande massa operária, e, nessas condições, si de um lado reduz ou impede definitivamente a atividade funcional do indivíduo, cria, por outro lado, as mais sérias dificuldades às organizações industriais, que se vêem, assim, privadas do concurso de grande número de empregados.

Admite-se, conforme é sabido, que o reumatismo incapacita para o trabalho maior número de pessoas que a própria tuberculose. Só por isso, é possível avaliar os malefícios e os prejuízos decorrentes de tal condição, que, em última análise, sacrifica o homem e dificulta o progresso da economia geral de um povo.

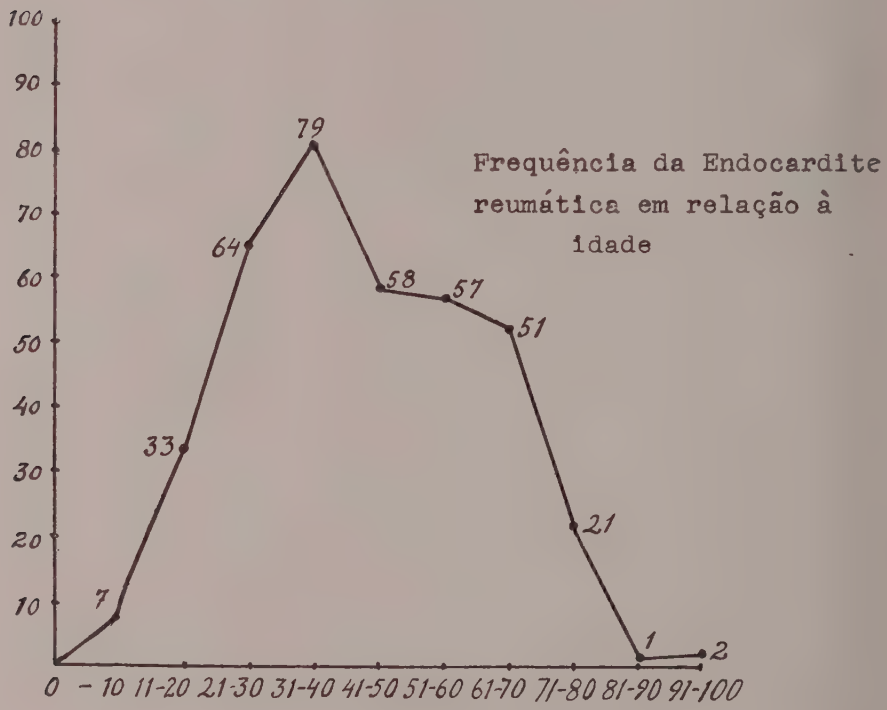
Ignorando-se ainda a sua etiologia certa, difícilmente poderá ser estabelecida uma conduta profilática e terapêutica que realmente ofereça resultados satisfatórios. Um grande passo, entretanto, foi dado ao ser admitido para a febre reumática o conceito de doença alérgica infecciosa, embora discutido e ainda não suficientemente esclarecido, para receber a aceitação unânime.

Na impossibilidade ainda de usar um método seguro para o diagnóstico da doença, vários critérios têm sido empregados para a avaliação da sua incidência. Dentre tôdos, o mais preferido tem sido o método clínico, de aplicação mais ampla ou geral, mas certamente menos rigoroso.

Possuindo, entretanto, o reumatismo uma lesão característica, considerada peculiar, os estudos devem ter por base, para o diagnóstico da condição mór-

* Recebido para publicação a 3 de janeiro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

bida o reconhecimento da lesão específica. A sua presença nos tecidos (necrose fibrinóide do tecido conjuntivo, nódulo de Aschoff) associada geralmente ao acometimento característico do endocárdio (endocardite reumática) permite estabelecer o melhor e mais seguro critério para a seleção dos casos. Infelizmente, tais lesões sómente podem ser conhecidas pelo exame anáto-patológico do material, na grande maioria das vêzes, retirado em necrópsias, o que certamente reduz o âmbito da sua aplicação.



Possuindo abundante material registrado na Seção de Anatomia Patológica durante muitos anos pelos seus diferentes técnicos, resolvemos, seguindo o critério anatômico, estabelecer a incidência da febre reumática no Rio de Janeiro.

Para tal fim, procuramos, em alguns casos, a lesão histológica característica e, na maioria, o comprometimento do endocárdio (endocardite) excluindo, naturalmente, todos aquêles em que havia suspeita ou certeza anatómica de sífiles. As conclusões a que chegamos não devem ser consideradas absolutamente reais, mas como as que mais devem aproximar-se da situação ver-

dadeira. Assim, a incidência aqui registrada deve ser admitida como a incidência mínima, pois, entre outras causas de erro, queremos referir a exclusão dos casos de endocardites bacterianas, as quais, segundo o conceito atual se desenvolvem, até em 75% dos casos, em válvulas prèviamente lesadas pelo reumatismo.

A revisão do material referido permite estabelecer as seguintes conclusões:

1 — O exame de 6.700 necrópsias dá a conhecer a existência de 589 casos de endocardites, as quais concorrem, assim, como causa mortis, em 8,82%.

2 — As endocardites, quanto à sua etiologia, classificam-se:

E. reumática	417 casos ou 6,22% das necrópsias
E. sifilítica	106 casos ou 1,58% das necrópsias
E. maligna	66 casos ou 0,98% das necrópsias

3 — Excluindo-se os casos de endocardite sifilítica ou de endocardite aórtica associada a lesões sifilitíticas, e os de endocardite maligna (bacteriana) restam 417 casos de endocardites reumáticas, que, por sua vez, constituem 6,22% do total das necrópsias e 70,79% do total das endocardites.

4 — As endocardites reumáticas, quanto à sua localização anatômica, assim se distribuem:

E. valvulares	396 casos ou 94,96% das endocardites
E. parietais	21 casos ou 5,04% das endocardites

5 — Em relação às lesões valvulares, observa-se a seguinte localização:

E. mitral	156 casos ou 39,39%
E. aórtica	120 casos ou 30,30%
E. tricúspide	10 casos ou 2,51%
E. pulmonar	2 casos ou 0,50%
E. mitral-aórtica	88 casos ou 22,22%
E. mitral-tricúspide	10 casos ou 2,51%
E. mitral-tricúspide-aórtica	9 casos ou 2,27%
E. mitral-tricúspide-pulmonar	1 caso ou 0,25%

6 — Em relação ao sexo, encontram-se para o sexo masculino 59,21% e para o feminino, 40,79%. Na endocardite mitral, observa-se, pràticamente, a mesma incidência para ambos os sexos (49,53% para o masculino e 50,47% para o feminino), ao passo que, na endocardite aórtica, o sexo masculino é atingido em 74,16% e o feminino em 26,84%.

7 — Em relação à côr:

Brancos	50,24% dos casos
Pretos	28,50% dos casos
Pardos	21,25% dos casos

8 — Em referência à nacionalidade:

Brasileiros	81,86% dos casos
Estrangeiros	18,13 dos casos

9 — Em relação à idade:

De 0 a 10 anos 7 casos	De 51 a 60 anos 57 casos
De 11 a 20 anos 33 casos	De 61 a 70 anos 51 casos
De 21 a 30 anos 64 casos	De 71 a 80 anos 21 casos
De 31 a 40 anos 79 casos	De 81 a 90 anos 1 caso
De 41 a 50 anos 58 casos	De 91 a 100 anos 2 casos

SUMMARY

1 — A close inquiry into 6700 post mortem examinations reveals amongst them 589 cases of endocarditis which, as causa mortis, thus concur with an 8.82% score.

2 — As to their etiology, the endocarditis cases are classified in:

Rheumatic E.	417 cases or 6.22% of the necropsies
Syphilitic E.	106 cases or 1.58% of the necropsies
Malignant E.	66 cases or 0.98% of the necropsies

3 — With the exception of the cases of syphilitic endocarditis, or aortic endocarditis connected with syphilitic changes, as well as of malignant (bacterial) endocarditis, 417 cases of rheumatic endocarditis are left which constitute 6.22% of the total amount of the post mortem examinations and 70.79% of the endocarditis cases.

4 — As to their anatomical location, the cases of rheumatic endocarditis are distributed as follows:

Valvular E.	396 cases or 94.96% of the endocarditis cases
Mural E.	21 cases or 5.04% of the endocarditis cases

5 — As to valvular changes, the following location was observed:

Mitral E.	156 cases or 39.39%
Aortic E.	120 cases or 30.30%
Tricuspid E.	10 cases or 2.51%
Pulmonary E.	2 cases or 0.50%
Mitral-aortic E.	88 cases or 22.22%
Mitral-tricuspid E.	10 cases or 2.51%
Mitral-tricuspid-aortic E.	9 cases or 2.27%
Mitral-tricuspid-pulmonary E.	1 cases or 0.25%

6 — As to sex, 59.21% are males and 40.70% females. As regards mitral endocarditis, the incidence for both sexes is practically one and the same (49.55% of males and 50.47% of females), whilst as regards aortic endocarditis 74.16% of males and 26.84% of females are affected by.

7 — As to colour:

White	50.24% of the cases
Black	28.50% of the cases
Brown	21.25% of the cases

8 — As to nationality:

Brazilians	81.86% of the cases
Aliens	18.13% of the cases

9 — As to age:

0 to 10 years	7 cases	51 to 60 years	57 cases
11 to 20 years	33 cases	61 to 70 years	51 cases
21 to 30 years	64 cases	71 to 80 years	21 cases
31 to 40 years	79 cases	81 to 90 years	1 cases
41 to 50 years	58 cases	91 to 100 years	2 cases

Estudos sobre a dosagem microbiologica das vitaminas do complexo B — II. Niacina

por

Gilberto G. Villela e Alberto B. Hargreaves

(Com 2 figuras no texto)

A necessidade em ácido nicotínico (niacina) e em nicotinamida (niacínamida) para o crescimento dos diversos microorganismos fêz com que êstes fôssem utilizados para a dosagem destas vitaminas.

Hughes, Knight, Landy e outros mostraram a necessidade da niacina para o desenvolvimento do "Staphylococcus aureus". Fildes verificou que o "Bacillus Proteus" só cresce em meio de cultura artificial se a êste fôr adicionada a niacina. Lwoff e Querido aplicaram êste fato para estabelecer uma técnica de dosagem quantitativa da nicotinamida. Esta técnica já havia sido ensaiada por um de nós em trabalho anterior (1)

Isbell e Woolley, Bulter e Sebrell verificaram que esta vitamina é indispensável para a "Shighella paradysenteriae".

Snell e Wright, em 1941, estudando o comportamento do "Lactobacillus arabinosus 17-5" verificaram que êste responde quantitativamente às doses de niacina presentes num meio de composição conhecida. Estabeleceram êstes autores um método bastante sensível e que tem sido largamente empregado para a dosagem da niacina nos meios biológicos e nos alimentos. (2)

Foi nosso intuito estudar o comportamento do L. arabinosus em diversos meios sintéticos. Procuramos assim obter um crescimento máximo que permitisse utilizar um meio de escolha para as dosagens nos meios biológicos diversos. Krehl, Strong e Elvehjem recentemente também propuseram algumas modificações na composição do meio de prova, bem como no preparo do material a ensaiar (3).

PARTE EXPERIMENTAL

Microorganismo.

Foi usado o "Lactobacillus arabinosus" 17-5 proveniente da Universidade de Texas, Estados Unidos.

* Recebido para publicação a 9 de janeiro de 1944 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Meio de prova.

Os ensaios comparativos feitos com o meio de prova de SNELL e WRIGHT e com o meio modificado por nós mostraram que as nossas curvas de crescimento atingiam uma elevação bem maior. Êsse estímulo obtido com o nosso meio deve-se à adição de asparagina e ao aumento da concentração de glicose e de acetato de sódio. Bem que a riboflavina, piridoxina e tiamina não sejam indispensáveis, conforme referem BOHONOS e colaboradores e SNELL e STRONG, achamos melhor conservá-las no meio.

Composição do meio de prova:

Hidrolisado de caseína (em substância sêca)	0,5 g
Acetato de sódio cristalizado	1,2 g
Glicose	2,0 g
Asparagina	25 mg
Triptofânio	10 mg
Cistina	10 mg
Cloridrato de guanina	0,5 mg
Sulfato de adenina	0,5 mg
Xantina	0,5 mg
Uracilo	0,5 mg
Solução salina A.	0,5 ml
Solução salina B.	0,5 ml
Solução de vitaminas	1,0 ml
Água destilada, até	100 ml

Solução salina A:

Fosfato monopotássico	5 g
Fosfato bipotássico	5 g
Água destilada	50 ml

Solução salina B:

Sulfato de magnésio (7 H20)	10,0 g
Cloreto de sódio	0,5 g
Sulfato de ferro (7 H20)	0,5 g
Sulfato de manganês (4 H20)	0,337 g
Água destilada	250 ml

Solução de vitaminas.

Cloridrato de tiamina	1,0 mg
Riboflavina	2.0 mg
Piridoxina.	4,0 mg
Pantotenato de cálcio	2,0 mg
Biotina	0,05 mg
Ácido cloridrico 0,01N	100 ml

Preparo do meio:

a) hidrolisado de caseína — Não se dispondo de caseína Labco livre de vitaminas, pode-se usar uma caseína bruta do comércio e purificá-la. Esta nos deu ótimos resultados e é muito mais econômica. Para isso, dissolvem-se 200g de caseína em 2 litros de água bicarbonatada a 0,03%, adicionam-se 2 ml de soda a 40% e leva-se à autoclave a 120° C durante 45 minutos para a completa dissolução da caseína e destruição das vitaminas. Filtra-se para separar as partículas não dissolvidas e as impurezas. Precipita-se o filtrado com o HCl até o pH 4.5. Redissolve-se novamente em meio alcalino. Repete-se a precipitação e a redissolução por mais 3 vêzes. Precipita-se mais uma vez a caseína em meio ácido. Cobre-se o precipitado com acetona acidificada e leva-se ao banho maria, substitui-se a acetona, adicionando-se nova quantidade e deixa-se macerar durante 12 horas na temperatura ambiente. Seca-se e trata-se pelo éter para completo desengorduramento. Com êste processo o rendimento é de cêrca de 100g de caseína purificada livre de vitaminas.

Tomam-se 100g de caseína purificada e juntam-se 500 ml de ácido sulfúrico a 25%, deixa-se 10 horas na autoclave a 120°C. O ácido sulfúrico é precipitado pelo hidróxido de bário (218,75g) e o sulfato resultante é filtrado. Ajusta-se o pH do filtrado para 3 e adicionam-se 10g de carvão ativado. Agita-se 1 hora, filtra-se e toma-se uma porção para se determinar o teor em substância sêca (secagem a 110°C durante 3 horas).

A êste hidrolisado claro junta-se o acetato de sódio, a xantina, o uracilo, guanina e adenina de modo que a 0,5g de substâncias sólidas do hidrolisado num volume determinado se dissolva 1,2g do acetato e 0,5mg de cada uma das bases púricas.

b) Solução de asparagina, cistina e triptofânio.

Dissolve-se 0,25g de asparagina, 0,1g de cistina e 0,1g de triptofânio em 100 ml de HCl 0,1N. KLINE acha que a cistina em concentração dupla proporciona resultados melhores, mas na concentração de 0,1% obtivemos sempre curvas máximas.

c) Solução de niacina a 25mg em 100 ml.

O meio se prepara misturando o volume do hidrolisado (cêrca de 12 ml) contendo 0,5g de substância seca às soluções abaixo.

Solução de asparagina-cistina, triptofânio	10 ml
Solução de vitaminas	1 ml
Solução salina A	0,5 ml
Solução salina B	0,5 ml

Dissolvem-se nesta mistura 2g de glicose pura. Acerta-se o pH para 6.6-6.8 com soda a 40% e aquece-se o líquido cuidadosamente em banho-maria fervente. Esfria-se e filtra-se. Completa-se o volume para 100 ml com água. Distribui-se em tubos de 20 x 160 mm, colocando-se 5 ml em cada. Para fazer a curva padrão, adicionam-se doses crescentes de niacina (de 0,01 microg a 0,6 microg por tubo) e completa-se o volume com água. Em outra série de tubos juntam-se doses crescentes do material a dosar e completa-se o volume para 10 ml com água. Levam-se os tubos à autoclave a 110°C durante 15 minutos.

A cultura do "Lactobacillus arabinosus" é semeada em meio de leite (48 horas a 37° e 12-15 dias a 5° C) e conservada na geladeira. As passagens são feitas no meio de cevada a 6%, glicosado a 0,2% onde fica 24 horas. Após êsse prazo semea-se no meio de prova adicionado de 1 microg de niacina para 10 ml do meio. Deixa-se 24 horas na estufa a 37°C, centrifuga-se asséticamente e lava-se por centrifugação 2 vêzes com solução salina a 0,85%. O centrifugado é suspenso em 10 ml da solução salina. Esta suspensão serve para o ensaio. Semea-se 1 gota para cada tubo e incuba-se a 37°C durante 3 dias.

Leitura

O conteúdo de cada tubo é passado para um balão de Erlenmeyer de 50ml. Lava-se o tubo com água que se passa para o balão. Titula-se pela solução de soda 0,1N, usando-se 0,5ml do indicador azul de bromotimol a 0,04%.

No Quadro I acham-se representados alguns resultados obtidos com extrados de lêvedo e de fígado em comparação com a solução padrão de niacina.

QUADRO I

NIACINA		EXTRATO DE LEVEDO		EXTRATO DE FIGADO	
γ por tubo	*ml* de soda 0.1N gastos	*ml* por tubo	*ml* de soda 0.IN gastos	*ml* por tubo	*ml* de soda 0.IN
0.025	0.9	0.002	1.8	0.001	1.0
0.050	2.2	0.005	3.2	0.002	2.4
0.10	4.0	0.010	5.1	0.005	4.3
0.20	5.2	0.020	6.5	0.010	6.2
0.30	6.0			0.020	7.5
0.40	6.6				
0.50	7.4				

O extrato de lêvedo empregado continha em 10 ml a quantidade de 1 g de lêvedo sêco, e do extrato de fígado correspondiam 100 ml a 100 g de fígado fresco.

A comparação entre os valores obtidos para a parte ascendente da curva representada na Fig. 1, permite concluir que para o extrato de fígado:

0,001 ml do extrato contem 0,03 γ de niacina;
0,002 ml do extrato contém 0,06 γ de niacina;
0,005 ml do extrato contém 0,125 γ de niacina;

e para o extrato de lêvedo:

0,002 ml contém 0,04 γ de niacina;
0,005 ml contém 0,08 γ de niacina;
0,010 ml contém 0,17 γ de niacina;

Êstes valores dão para o fígado 3 mg de niacina para 100 g de órgão e para o lêvedo 17 mg de niacina para 100 g de lêvedo sêco.

As determinações fotométricas feitas pela reação de König com o bromociano e a anilina nas proporções usadas em (1) forneceram resultados muito aproximados como se pode ver no Quadro II.

QUADRO II

Comparação entre os métodos microbiológico e fotométrico

DILUIÇÃO	EXTRATO DE FIGADO		
	g PARA 5 *ml*	EXTINÇÃO (E) LIDA NO FOTOMETRO	NIACINA EM γ
1:10	0,5	0,19	15,5
2:10	1,0	0,36	31,0
	EXTRATO DE LEVEDO		
1:10	50 mg	0,10	12,5
2:10	100 mg	0,22	18,0
4:10	200 mg	0,42	41,0

METODO	EXTRATO DE FIGADO em *mg* para 100 *g* frescas	EXTRATO DE LEVEDO em *mg* para 100 *g* sêcas
Microbiológico.....	3,0	17,0
Fotométrico.....	3,1	18,0

Foram feitos ensaios com cinco meios diferentes para estudar o comportamento do "L. arabinosus" e eleger o meio de escolha. Na fig. 2, para melhor compreensão, transcrevemos gràficamente êstes resultados e no quadro III se encontra a composição dos mesmos.

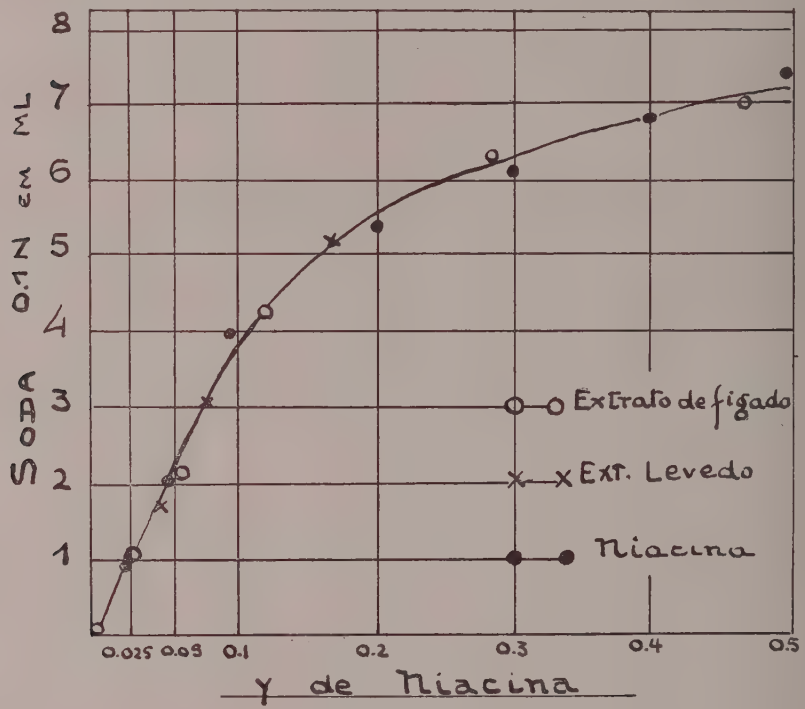


FIG. I
Resposta do "L. arabinosus" às concentrações crescentes de niacina

A dose de 1 g de glicose para 100 ml do meio (50 mg por tubo) como no meio A, não ocasiona o crescimento máximo como observaram LANDY e DICKEN para o "L. casei" (4). Aumentando-se a concentração da glicose para 2 g por cento, o crescimento torna-se máximo (meio B). No meio C experimentamos metade das doses de asparagina, cistina e triptofânio e o crescimento foi também sub-maximal. Esta deficiência pôde ser compensada pela adição do extrato hepático ou do lêvedo como foi feito no meio D. O extrato de fígado rico em amino ácidos compensa, portanto, a insuficiência do meio em triptofânio, cistina e asparagina. O extrato de fígado contém 0,62γ de niacina em 2 ml ou seja 0,03γ por tubo. O crescimento não ultrapassou, todavia, o obtido com a niacina pura, demonstrando que o extrato é isento de outras substâncias esti-

mulantes para o "L. arabinosus" além da niacina. O meio E que contém doses superiores dos amino acidos e do hidrolisado de caseína permite o crescimento máximo e a curva de acidez produzida é proporcional à quantidade de niacina adicionada.

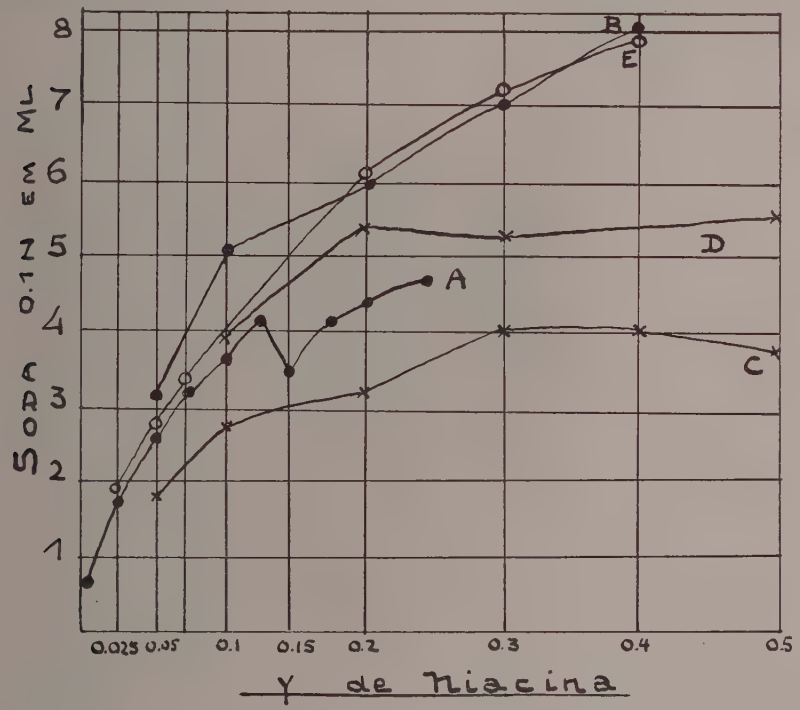


FIG. II

Resposta do "L. arabinosus" nos diversos meios ensaiados

QUADRO III

Composição dos meios estudados

CONSTITUINTES	A	B	C	D	E
Hidrolisado de caseína	12 ml	12 ml	12 ml	12 ml	20 ml
Glicose	1 g	2 g	2 g	2 g	2 g
Asparagina	25 mg	25 mg	12,5 mg	12,5 mg	25 mg
Cistina	10 mg	10 mg	5 mg	5 mg	10 mg
Triptofânio	10 mg	10 mg	5 mg	5 mg	10 mg
Sol.salina A	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	1 ml
Sol.salina B	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	1 ml
Mistura de vitaminas	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Extrato de fígado	—	—	—	2 ml	—
Agua destilada	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml

No caso de se empregarem amostras de órgãos ou alimentos deve-se homogenizar bem o material e tomar 1 g que se suspende em 50 ml de ácido clorídrico ou sulfúrico. Autoclava-se a 110° durante 20 minutos, esfria-se e acerta-se o pH para 6.6-6.8 com soda normal. Dilue-se então para que 1 ml contenha 0,05 y de niacina aproximadamente.

ABSTRACT

Microbiological assay for niacine

The microbiological assay method of Snell and Wright for niacine was studied and some modifications of the basal medium were proposed. A maximal growth of the "Lactobacillus arabinosus" was obtained by the addition to the basal medium of 25 mg% asparagine and increasing the percentages of glucose and sodium acetate.

Liver and yeast extracts were assayed satisfactory and the niacine added was recovered quantitatively.

BIBLIOGRAFIA

1. — Villela (G. G.)

   1940. Dosagem do ácido nicotínico (Vitamina P-P) no sangue. O Hospital, 17 : 431-442.

2. — Snell (E. E.) e Wright (L. D.),

   1941. Assay method for nicotinic acid. University of Texas Public. N.° 4.137 : 22-23.

3. — Krehl (W. A.), Strong (F. M.) e Elvehjem (C. A.).

   1943. Determination of nicotinic acid. Modifications in the microbiological method. Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.) 15 : 471-475.

4. — Landy (M.) e Dicken (D. M.)

   1942 — A microbiological assay method for six B vitamins using Lactobacillus casei and a medium of essentially known composition. Jour. Lab. Clin. Med.: 27, 1086-1092.

Classificação hidrobiologica das aguas do Oceano Atlântico no litoral do Brasil

por

Lejeune P. H. de Oliveira (*)

INTRODUÇÃO

Os sêres vivos que existem nos oceanos podem ser repartidos em duas categorias: uns vivem no fundo do mar, no solo submarino e outros flutuam entre as águas. Na primeira categoria, que compreende o que HAECKEL denominou de "Bentos", estão grupados os sêres que vivem fixados no fundo do mar, os que andam ou se arrastam no solo submarino, e os que nadam muito pouco repousando freqüentemente no chão; as ascídias, os braquiópodos, os briozoários apresentam um modo de vida bentónica. Na segunda categoria, que compreende o "zoopélago", estão todos os sêres animais que flutuam entre as águas, êstes são os seres pelágicos.

Os radiolários, as medusas, os sifonóforos, quetognatos, heterópodos, pterópodos apresentam um modo de vida pelágica. No zoopélago há uns animais que resistem ao movimento das águas, êles se deslocam em uma determinada direção mesmo contra a maré e contra as correntes tais são por exemplo: os peixes, as tartarugas, os cetáceos. O conjunto dêstes animais constitue o necton. Os outros seres que são levados pelas aguas constituem o que HANSEN denominou de plancton.

Assim uma espécie de microcrustáceo da subclasse COPEPODA e daqueles que possuem vida livre faz parte do Plancton.

A corrente do Brasil leva algumas das espécies de *Copepoda* planctônicos até ao Golfo da Guiné, onde entram na corrente equatorial do sul que as carregam para o Mar das Caraibas, para a Florida. A mesma corrente do Brasil lança estas espécies na grande corrente austral, e, assim tais espécies correndo com a circulação geral dos oceanos do nosso planeta terrestre tornam-se de distribuição zoogeográfica cosmopolita.

* Recebido para publicação a 17 de janeiro de 1945 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Um dos traços que caracterizam muito os sêres planctônicos marinho: é terem uma área de dispersão muito vasta, como podemos apreciar pela lista dos CRUSTACEA COPEPODA de vida livre, das águas da região Atlântico Tropical.

Acartia danae Giesb.: Atlântico tropical, Atlântico Norte, Costa sul da África, Mar de Banha, Bahia de Bengala, Golfo de Manaar.

Acrocalanus longicornis Giesb.: Abrolhos. Oceano Pacífico, Oceano Índico.

Calanus brevicornis Lubbo.: Rio de Janeiro, Oceano Atlântico.

Calanus finmarchicus (Gunne.): Cosmopolita, em todos os oceanos, inclusive Ártico e Antártico.

Calanus minor (Claus): Mediterrâneo, Austrália, Oceano Atlântico tropical, Oceano Pacífico tropical, Oceano Índico, Mar vermelho, Mar arábico, Arquipélago Malaio.

Calanus propinquus Brady: Oc. Índico, Oc. Pacífico, Austrália, Japão, Oc. Atlântico, Oc. Mediterrâneo.

Calanus robustior Giesb.: Bahia (estado da), Oc. Atlântico, Oc. Pacífico.

Calocalanus pavo (Dana); Oc. Atlântico Tropical, Oc. Pacífico, Mediterrâneo, Mar Vermelho, Oc. Índico.

Calocalanus plumulosus (Claus): Oc. Atlântico tropical, Mediterrâneo, Oc. Pacífico, Gulf Streeam.

Candace bipinnata Giesb.: Arquip. Abrolhos, Oc. Pacífico.

Centropages bradyi Wheel.: Oc. Atlântico tropical, Gulf Stream, Oc. Pacífico, Austrália, Filipinas.

Centropages typicus Kroey.: Oc. Atlântico tropical, Oc. Atl. Norte.

Chytemnestra scutellata Dana: Oc. Atlântico fora do Rio de Janeiro, Lat. S. 25°.

Clausocalanus arcuicornis (Dana): Oc. Atlântico, Mediterrâneo, Oc. Pacífico, Oc. Índico, Mar Vermelho, Mar arábico, Arquipélago Malaio.

Copilia lata Giesb.: Rio de Janeiro.

Copilia mirabilis Dana: Oc. Atlântico tropical, Oc. Atl. Sul, Oc. Pacífico. Oc. Índico.

Corycaeus elongatus Claus: Oc. Atlântico, Mar mediterrâneo.

Corycaeus obtusus Dana: Oc. Atlântico tropical; Oc. Pacífico Sul, Mar de Zulu, Mar do Japão, Filipinas, Mediterrâneo, Mar arábico. Oc. Índico, Arq. Malaio, Mar Vermelho, Oc. Atlântico Norte.

Corycaeus speciosus Dana: Oc. Atl. Trop., Oc. Pacífico trop., Mar Vermelho, Oc. Índico, Mar Arábico, Oc. Atlântico Norte, Mediterrâneo, África do Sul.

Corycaeus venustus Dana: Oc. Atlântico Tropical; Oc. Pacífico tropical, Mar Vermelho, Oc. Índico, Golfo da Guiné, Costa da Califórnia.

Eucalanus crassus Giesb.: Oc. Atl. Trop.

Eucalanus attenuatus (Dana): Oc. Atlântico trop.; Mediterrâneo; Oc. Pacífico, Mar Vermelho; Oc. Índico; Arc. Malaio; Mar da China.

Euchirella pulchra Lubbo.: Oc. Atl. Tropical; Arquipélago dos Abrolhos, Golfo da Guiné.

Eucheta marina Prest.: Oc. Atlântico, Mediterrâneo, Oc. Pacífico.

Gaetanus miles Gisb.: Atlântico, Pacífico tropical.

Heterorhabdus longicornis (Gi, Schm.): Oc. Atlântico tropical e Norte. Arq. Malaio

Labidocera acutifrons (Dana): Oc. Atlântico Tropical, Ilhas do Pacífico; Austrália, Mediterrâneo. Oc. Antártico e Atlântico Norte.

Labidocera nerii (Kroye.): Oc. Atlântico. Arquip. Malaio.

Leuckartia flavicornis Claus: Oc. Atlântico, Oc. Mediterrâneo.

Mec ynocera clausi Thomp.: Oc. Atlântico, Oc. Pacífico, Oc. Índico, Mar do Norte, Gulf Stream.

Miracia efferata Dana: Oc. Atlântico Norte e Tropical, Oc. Pacífico Sul.

Monops brevis Giesb.: Arquipélago dos Abrolhos.

Monops regalis Dana: Oc. Atlântico Tropical e Sul; Mar de Zulu.

Neocalanus gracilis (Dana): Oc. Atlântico tropical, Mediterrâneo, Oc. Pacífico, Oceano Índico.

Oithona plumifera (Baird): Mares britânicos, Atlântico Norte, Mediterrâneo, Oc. Atlântico tropical, Arquipélago Malaio, Mar Arábico, Mar Vermelho, Cabo da Boa Esperança.

Oncaea venusta Phill.: Oc. Atlântico Sul, e Norte, Mediterrâneo, Oc. Índico.

Paracalanus parvus (Claus): Oc. Atlântico, Mar do Norte, Noruega, Guiné, Mediterrâneo, Mar Vermelho, Oc. Índico, Mar Arábico, Arq. Malaio, Oc. Pacífico Sul.

Pleuromamma gracilis (Claus): Atlântico tropical, Golfo Guiné, Mediterrâneo, Atlântico Norte, Oc. Índico, Mar Vermelho, Oc. Pacífico, Arq. Malaio, costa da Califórnia.

Pleuromamma xiphias Giesb.: Arquipélago dos Abrolhos.

Pontella atlantica M. Edwa.: Oc. Atlântico e Mediterrâneo.

Pontella securifer Brady: Oc. Atlântico tropical, Golfo da Guiné, Mediterrâneo, Mares da África do Sul, Oc. Índico, Oc. Pacífico, Arq. Malaio Ceilão, Bengala.

Pontellina plumata Dana: Oc. Atlântico, Mediterrâneo, Oc. Pacífico, Borneo, Singapura.

Rhincalanus cornutus Dana: Oc. Atlântico tropical, Oc. Pacífico.

Rhincalanus nasutus Giesb.: Oc. Atlântico Norte e tropical, Mediterrâneo, e Pacífico Sul.

Scaphocalanus magnus (T. Scott): Espécie do Oceano Ártico que vive em todos os mares.

Sapphirina nigromaculata Claus: Oc. Atlântico tropical e Norte; Mar Mediterrâneo, Oc. Índico, Mar Vermelho.

Sapphirina ovatolanceolata Dana: Oc. Atlântico tropical e sul e Norte; Mediterrâneo, Oc. Índico, Mar Vermelho.

Temora stylifera (Dana): Oc. Atlântico tropical, Mediterrâneo, Oc. Pacífico Tropical, Mar Vermelho, Mar Arábico, Arquipélago Malaio.

Temora turbinata (Dana): Oc. Atlântico tropical; Mar de Zulu, Hongkong, Nova Zelandia, Golfo de Maine. Golfo da Guiné.

Undeuchaeta minor Giesb. Gulf Stream, Irlanda, Canal Faroe, Shetland, Oc. Atlântico tropical, e Sul, Oc. Pacífico, Oc. Índico.

Undinula vulgaris (Dana): Oc. Atlântico tropical, Oc. Índico, Mar Vermelho, Mar Arábico, Austrália, Hawaí, Hong-kong.

Lembremos aqui que esta tão esquemática e elementar explicação do cosmopolitismo só servirá para raríssimos casos. O estudo da distribuição geográfica dos sêres marinhos do litoral do Brasil liga-se à paleontologia do sistema pliocênico da era terciária.

A interpretação de tais fenômenos hidrobiológicos é de dificuldade transcendente; para isto basta-se ler o que o grande mestre Prof. Alípio Miranda Ribeiro escreveu sôbre a distribuição da fauna do litoral do Brasil.

R. von Ihering é autor de uma teoria que auxilia a explicar o dificílimo problema da distribuição geográfica descontínua dos nossos animais marinhos. O Brasil e a América Meridional estavam antes desta era em conexão para leste com a África a para o sul com um continente antártico. Ihering foi um dos primeiros a constatar que a atual fauna marítima brasileira é constituída por elementos faunísticos diversos, vindos em migrações sucessivas e distintas desde outras épocas geológicas, de tal modo que as espécies de nossa fauna marítima atual são distribuídas até as Antilhas, enquanto que outras aparecem no Oceano Pacífico, nas costas da América do Sul e Central, na costa oriental da África e no Oceano Índico.

O extinto continente brasileiro-africano, a terra de Gondwana, que se estendia até a terra Indo Malgache servia de passagem para as faunas Arctogeicas, Neogeicas, e Notogeicas. O continente austral Arquinotis de Von Ihering naquelas eras ligava a Patagonia à Austrália enquanto que a terra Arquelenis ia até ao continente Africano servindo de ponte para caminhar das faunas.

Os microcrustáceos da subclasse COPEPODA como acabamos de ver e a maioria dos crustáceos da ordem DECAPODA NATANTIA, como os camarões, lagostas, lagostins, em geral saem da faixa litoral (*) e passam para as faixas oceanicas, para o alto mar onde são levados pelas correntes que os distribuem por tôdas as águas de todos os mares do nosso planeta terrestre.

Ao contrário dos animais das faixas oceânicas e dos que vivem nas camadas disfóticas e afóticas são mais interessantes para o estudo da zoogeografia do planalto continental os animais de vida bentônica e os que não saem das faixas litorais.

(*) *Faixa litoral* — Camada dágua do mar junto ao continente, que tem cêrca de 150 quilômetros de largura e 200 metros de profundidade; zona eufótica, em que há desenvolvimento de vegetais e que tem como solo submarino o planalto continental. Corresponde aproximadamente ao mar litoral, mar territorial, mar jurisdicional ou seja, aqui para o nosso caso: águas brasileiras.

Escolhemos particularmente os crustáceos porque é o material com o qual já temos um pouco de prática e já passamos os olhos por uma boa parte da vastíssima bibliografia carcinológica. Por estas duas circunstâncias é que elegemos os crustáceos e não outra classe de animais para o presente estudo.

Escolhemos os crustáceos sedentários ou quase sedentários, os caranguejos lerdos, desajeitados, pesadões, que pouco se locomovem, que pouca habilidade têm no utilizar das pinças. Êstes caranguejos se acham muito na dependência do solo submarino.

Além disso o presente trabalho também escolhemos caranguejos das faunas intercortidal e supralitoral.

A proximidade das terras influi mais sôbre a faixa litoral que sôbre o alto-mar. A vizinhança da flora litoral, as intensas variações de temperatura, luminosidade, as agitações freqüentes devido às marés, às correntes, às ondas, às bruscas mudanças de salinidade trazidas pelas águas doces dos rios são condições hidrobiológicas peculiares ao habitat de um caranguejo.

Não nos ocupamos das faixas oceânicas, pois o alto mar não oferece subdivisões oceanográficas do mesmo modo que as faixas litorais. As variações no meio do mar são menores. A distribuição das faunas das camadas oceânicas de superfície, das camadas afoticas, e abissais em vez de ser relacionada com a geografia e a geologia dos massiços continentais é subordinada a outros dados que exigem os dispendiosos e dificílimos métodos oceanográficos pròpriamente ditos, com seus navios de aparelhagem altamente especializada. Ao contrário os simples e econômicos métodos hidrobiológicos com seus aquários e estações de hidrobiologia, sua navegação de pequeno percurso em canôas e lanchas ainda trará durante séculos numerosas contribuições originais para o conhecimento da imensa fauna e flora das regiões litorais eufoticas.

A observação e a justaposição dos conhecimentos referentes ao meio aquoso, dos dados relativos ao ser vivo e dos informes concernentes ao solo são os critérios que se emprega em Hidrobiologia para traçar qualquer sistema oceanográfico-biológico.

Notemos que êste é o primeiro ensaio que se faz da parte marítima da Hidrobiologia no Brasil.

Ao Prof. Dr. Henrique de Aragão agradeço tôdas as sugestões para a realização dêste ensaio, que passo a apresentar e que foi realizado na Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz, em Manguinhos. Rio de Janeiro.

REGIÃO ZOOLOGICA ATLÂNTICO — TROPICAL

SUBREGIÃO ZOOLÓGICA LESTE AMERICANA

Província zoogeográfica marítima brasileira

Esta província está neste sistema que apresento, dividida em quatro departamentos oceanográfico-biológicos:

1.º *Departamento bio-oceanográfico*: Cabo Orange ao Cabo Gurupi. Salinidade baixa, águas muito quentes. Influenciado pelo estuário do Rio Amazonas. Águas avermelhadas. Regime de ventos: cabo Orange a Tapagé. Terreno cenozóico quaternário atual na faixa supralitoral.

2.º *Departamento bio-oceanográfico*: Cabo Gurupi ao Cabo S. Roque. Litoral de boa salinidade. Influenciado pela corrente equatorial do Sul. Marés as mais altas da província zoogeográfica brasileira. Águas quentes. Faixa de terreno supra litoral: cenozóico terciário.

3.º *Departamento bio-oceanográfico*: Cabo S. Roque a Paranaguá. Influenciado pela corrente do Brasil. Águas quentes.

4.º *Departamento bio-oceanográfico*: Paranaguá ao Arroio Chuí. Litoral influenciado pelas correntes de Falkland. Águas de temperatura média.

1.º DEPARTAMENTO BIO-OCEANOGRÁFICO

Que está dividido em duas seções:

1.ª *seção bio-oceanografica* — Cabo Orange ao Cabo Norte. Se observarmos uma carta de salinidade do Oceano Atlântico veremos que do cabo Orange ao Gurupi a salinidade desce abaixo de 30 por mil e a densidade média abaixo de 1,0265. O litoral apresenta um aspecto baixo e visível a 11 e a 13 milhas de distância, é alagadiço, apresenta bancos de lodo muito extensos. Regime de águas quentes, a média 25°C elevando-se até 30°C. Na fauna de crustáceos não há particularidades, são os mesmos da Florida e do Mar das Antilhas, assim como também não apresentam aspectos peculiares os seus manguezais de componentes idênticos aos do Golfo do Mexico e Mar das Antilhas.

2.ª *seção bio-oceanográfica* — Cabo Norte ao Cabo Gurupí. Dividida em dois distritos bio-oceanográficos:

1.º *distrito*: Regime de estuário (do cabo Norte à ponta da Tijioca) — Local onde há o fenômeno da pororoca. Litoral cheio de ilhas, a ilha de Ma-

rajó apresenta como muito característico na fauna de crustáceos o *Dilocarcinus septemdentatus* (Herbst) estudado por Goeldi. Faixa supralitoral: de terreno quaternário.

2.º *distrito bio-oceanográfico*: da Tijioca ao cabo Gurupi. Faixa supra litoral: de terreno cenozóico terciário. Apresenta o crustáceo *Pseudotelphusa agassizi* Rathb. espécie que talvez seja característica da fauna dêste distrito, até hoje só tem sido capturada neste trato do litoral. Em hidrobiologia o conceito de espécies características não exige que esta espécie seja autóctone, mas que exista em maior número e com mais freqüência e que se desenvolva e se adapte melhor às condições do meio aquoso.

2.º DEPARTAMENTO BIO-OCEANOGRÁFICO

As águas do Oceano Atlântico no trecho que vai do Cabo Gurupí até ao cabo de S. Roque sofrem influência da corrente equatorial do sul. Trecho de litoral inclinado para S. E. De Parnaíba a S. Roque há arrasto arenoso de L. para O. produzido pelos ventos alíseos de S. E.

Defronte ao cabo de S. Roque já começam a se manifestar os recifes de coral que têm origem no Ceará e vão até próximo a S. Salvador. De S. Roque para o sul há espécies coralofilas.

Ao nível do cabo S. Roque dá-se a bifurcação das correntes marítimas, uma indo para as Guianas — a corrente equatorial do sul e a outra a corrente do Brasil.

Quanto aos crustáceos estudados até hoje consta-se que: Até ao cabo de S. Roque encontra-se o caranguejo *Micropanoppe nuttingi* (Rathb.). O grande guaiá *Xanthias inornatus* (Rathb.), não é pescado mais ao sul de S. Roque.

O cabo de S. Roque marca o limite norte da área de dispersão do arati *Hemigrapsus affinis* Dana, do caranguejo "aranha do mar" *Leucippa pentagona* M. Edwa.

3.º DEPARTAMENTO BIO-OCEANOGRÁFICO

A 1.ª *seção bio-oceanográfica* dêste departamento é S. Roque-Olinda, que apresenta os seguintes caracteres: O litoral ao dobrar o cabo de S. Roque toma o rumo médio de S 16°. E até ao Cabo Branco. Do Cabo Branco para o sul a costa alcança o extremo oriental do Brasil, na Ponta de Timbahú.

O aspecto desta seção bio-oceanográfica é mais verdejante que o do cabo Cancanhar para o Norte; é tôda guarnecida de outeiros muitos sendo de grés avermelhado, outros sendo como dunas errantes. Êles são separados por praias em que desembocam pequenos rios. Por vêzes os outeiros se acabam em rochedos que mergulham no mar. O planalto submarino toma aspecto diverso ao dobrar o cabo S. Roque. E' caracterizado por estar orlado de recifes, ora isolados da terra, ora enraizados nos barrancos litorâneos. Tais recifes são de grés calcáreo ou são recifes coralinos. Às vêzes se associam as duas espécies de recifes. No solo submarino da faixa litoral eufótica os recifes de grés ficam aquém da isobata de 5 pés e em alguns locais até para dentro da de 3 pés, a 5,50met ros de profundidade em quanto que os coralinos acham-se localizados em sítios de maiores profundadidades.

Caracteres zoogeográficos: Limite sul da área de dispersão do caranguejo *Pachygrapsus gracilis* (Sauss.) que habita desde as Bahamas até esta seção oceanográfica-biológica. O lindo aratu vermelho *Grapsus grapsus* (L.) não encontra *habitat* favorável ao sul de Olinda, e vai se escasseando até desaparecer. Depois dos estudos carcinológicos da insigne autoridade Dra. Mary Rathbun já se pode afirmar que o caranguejo chama-maré existente nesta seção é a *Uca spinicarpa* Rathb.

Há nesta seção uma curiosidade surpreendente: o aratú *Leptograpsus variegatus* (Fabri) espécie de distribuição geográfica descontínua: existe no Chile no Perú e na seção S. Roque Olinda. Esta distribuição zoogeográfica pode ser explicada pela teoria de von Ihering. Quanto ao caranguejo *Sesarma crassipes* Cano parece-me ser característico da fauna desta seção, porque não tem sido encontrado em nenhuma outra parte do mundo. Os progressos recentes da carcinologia marcam as proximidades de Olinda como o limite sul da área de onde os *Carpillus corallinus* (Herbs.) estabelecem o seu habitat; o mesmo acontece com a *Plagusia depressa* (Fabri.).

2.ª *seção bio-oceanográfica*: abrange o litoral compreendido entre os faróis de Tamandaré e de S. Tomé, e seguindo a diretriz principal em rumo NNE — SSO.

O 1.º *distrito bio-oceanográfico* desta seção é: Olinda a Bahia de Todos os Santos. Litoral de direção SSE., terreno das faixas supralitorais: terciario eógeno, e mezozóico cretáceo.

A fauna marinha dêste distrito conta com animais coralofilos. Ainda se encontra a *Domecia hispida* Eydoux & Soul. e o siri *Portunus anceps*. Julga-se que êstes crustáceos não vivam bem se a temperatura da água do mar for inferior à 20° C., e o mesmo parece dar-se com o *Batyplax typhla* A. M. Edw. e com o aratu *Sesarma curacaoense* de Man, com o *Collodes inermis* A. M.

Edw. A temperatura dagua dêste distrito, à superfície, é: mínima 20° C. (Agôsto) e máxima 25° C. (Fevereiro).

O 2.° *distrito bio-oceanografico* é Bahia de Todos os Santos a Parcel de Abrolhos.

Da Baía de Todos os Santos até ao Recife de Itacolomis a costa toma a direção quase de N.—S. Aproximadamente ao nível dos Abrolhos ha mudança brusca nas curvas de temperatura dágua. Segundo Schott. no litoral da Baía a 100 metros de fundo a temperatura sendo 24° C. a de superficie é 25° C; de 18° Lat. S. para o norte a temperatura média em tôdas as épocas do ano não cai abaixo de 20° C. Isto é importante, pois as variações térmicas constituem uma verdadeira barreira à dispersão dos animais. Ao sul de Abrolhos a temperatura cai abaixo de 20° C. nas épocas mais frias do ano.

Vive neste distrito a *Uca thayeri* Rathb. O Parcel dos Abrolhos marca o limite sul da área de dispersão dos grandes siris *Portunus ordwayi* (Stimp.); dos guaiás *Xanthodius denticulatus* (White), e do pequeno guaiá *Micropanopeus spinipes* M. Edw. e da *Melibia thalamita* Stimp.

Há numerosas espécies talvez autóctenes, ou talvez características da fauna dêste distrito bio-oceanográfico: "corongondós" *Pagurus loxochelis* Morei., os caranguejos "aranhas do mar" *Lambrus guerini* B. Cape.; os guaiás *Pilumnus brasiliensis* Miers, *Pilumnus fragosus* Miers, e o *Petrolistes serratus* Hend.

A barata da praia *Ligia dilatata* Perty sòmente foi encontrada na Bahia.

O *terceiro distrito bio-oceanográfico* é Abrolhos a S. Tomé. Litoral de direção SSO. As águas são menos quentes, a área de dispersão zoogeográfica do caranguejinho "chama-maré" *Uca thayeri* Rathb. não alcança além do cabo de S. Tomé.

A seguinte *seção bio-oceanografica* é: S. Tomé a Paranaguâ-, o seu 1.° *distrito* é S. Tomé a Cabo-Frio.

No cabo S. Tomé a direção da costa inclina-se para O S O. O litoral é muito baixo até as proximidades de cabo dos Buzios. Os rios da região escoam para o oceano através de lagunas. Do cabo dos Buzios em diante a costa é elevada mudando de direção e de aspecto até cabo Frio. Neste pequeno trecho de 150 quilômetros há zoològicamente a seguinte espécie que talvez seja característica da fauna deste distrito bio-oceanografico, se for melhor estudada: *Chasmocarcinus typicus* Rathb. Ainda encontramos: o caranguejo aranha do mar: *Rochinia gracilipes* A. M. Edw que se estabeleceu da Patagônia até Cabo Frio. Encontramos o sirí *Portunus ventralis* (A. M. Edw.),

o guaiá *Tetraxanthus bidentatus* A. M. Edw. os caranguejos "aranha do Mar" *Anasimus fugax* A. M. Edw, e *Podochella gracilipes* Stimp.

Cabo Frio marca o limite norte da área de dispersão das espécies *Collodes rostratus* A. M. Edw. e da *R. gracilipes* como vimos; marca o limite sul de *Chelonibia careta* (Speng.) caráca encontrada desde cabo Frio até à Flo-rida., assim com a *Chelonibia testudinaria* (L.).

Ora a distribuição dos animais marinhos do litoral se baseando quase exclusivamente nas condições climáticas do meio hidrobiológico, e na configuração do "plateau — continental" da lugar a que a mudança de fauna coincida com as mudanças topo-oceanográficas.

Distrito oceanográfico: Cabo Frio a Ilha Grande.

De Cabo Frio para a Ilha Grande o litoral toma a direção L. para O. e toma outro aspecto geográfico. Geològicamente: a faixa supra litoral é de terreno arqueano lourenciano.

Caracteres faunísticos: Há um pequeno caranguejo chama-maré a *Uca uruguayensi* Nobil, que estabeleceu seus bandos desde o Uruguai até Cabo Frio. A aranha do mar *Epialtus brasiliensis* Dana, espécie que vive quase sempre sôbre a alga *Fucus natans* apresenta-se freqüente neste distrito oceanográfico-biológico. O caranguejo espia maré *Chasmagnatus granulatus* Dana, que vive aos milhares na Baía de Guanabara é elemento hidrobiológico importantíssimo pela fato do gênero *Chasmagnatus* só apresentar esta espécie como representante no Atlântico. As demais espécies dêste gênero freqüentam os mares das Filipinas e do Japão.

Considero a Baía de Guanabara *distrito bio-oceanográfico distinto* por apresentar características hidrobiológicas próprias: A sua massa enorme dágua, com variados regimes poli, oligo emeso-halinos apresenta uma área de 412 km2., sua profundidade notável, protegida do mar pela estreita entrada, e protegida dos ventos pela grinalda montanhosa que a circunda, e por possuir uma fauna autóctone.

Caracteres faunísticos: *Macromysis gracilis* Dana, *Rachitia spinalis* Dana, *Lucifer acicularis Sycionia carinata* (Olivier) *Alpheus malleator* Dana. Os interessantes *paguridae* que vivem nas conchas: *Clibanarius brasiliensis* Dana, *Eupagurus critinicornis* (Dana); as aranhas do mar: *Lithadia brasiliensis* (Heller), o *Porcellanidae;, Porcellana frontalis* Hellt.

Há na Baía de Guanabara um conjunto de condições que entram em jôgo para o *habitat* favorável ao aratú *Pachygrapsus maurus* (Lucas) que sòmente existe nos Açores, Ilha da Madeira e na Baía do Rio de Janeiro.

Além disto constitui o limite norte das espécies que são carregadas pelas correntes de Falkland:

Eurypodius latrellei Gueri. (Aranha do mar vinda do Chile, Patagonia, Uruguay, até ao Rio) *Leurocyclus tuberculosus* (M. E. & Luz.) e o aratu que vem da Patagônia ao Rio: *Cystograpsus angulatus* Dana. E' o limite sul da área de dispersão de várias espécies de crustáceos que vem da Florida até ao Rio:

Stenorhynchus seticornis (Herbst), *Metoporhaphis calcarata* (Say), *Podochella riisei* Stimp. *Batraconotus fragosus* Stimp. o aratu *Sesarma ricordi* M. Edw.; as a baratas da praia: *Ligia orfersii* Brandt, *L. baudiniania* M. Edw. vêm da Florida até ao Rio de Janeiro. e as caracas *Balanus antilensis* Pilsb. vêm de Cuba ao Rio.

Distrito Bio-oceanografico: Ilha Grande a Paranaguá:

Geogràficamente da Ilha Grande para o sul a costa apresenta muito recortada, o litoral muda a direção, de L. para O. que era passa para a dirigir-se para S S O., ao mesmotempoque atravessa o trópico de Capricórnio.

Como fauna característica de distrito apontamos o *Cancer luederwaldti* Rathb., caranguejo do litoral de S. Paulo, assim como o guaiá *Hexapanopeus paulensis* Rathb., cremos que sejam espécies autóctones de S. Paulo.

Êste distrito marca o limite sul da área de dispersão de numerosas espécies. entre elas assinalaremos: o guaiamu: *Cardisoma guanhumi* Latre., o ussá (ou caranguejo verdadeiro) *Ucides cordatus* L.; o aratu verdadeiro vermelho e preto: *Goniopsis cruentata.*

O caranguejo "marinheiro" *Aratus pisoni* (M. Edw.) cujos hábitos foram descritos por Luederwaldt não é encontrado mais ao sul deste distrito; o mesmo é para a *Uca leptodactyla* Rathb.

Há uma espécie de distribuição geogràfica descontínua: *Geograpsus lividus* (M. Edw.) caranguejo avermelhado, com manchas amarelas de hábitos noturnos; é encontrado em algumas seções do Pacífico e no litoral de S. Paulo. Há duas espécies de *grapsidae* particulares; *Sesarma miersii* Rathb — *Sesarma iheringi* Rathb. que são muito abundantes neste distrito oceanográfico-biológico e apresentam como limite norte de sua area de dispersão o litoral da Baía.

A baratinha da praia *Ligia exotica* Roux 1899 se estende até êste distrito. O Prof. Dr. Paulo Sawaya muito estudou-a em Fisiologia Geral.

4.º DEPARTAMENTO BIO-OCEANOGRÁFICO

(Paranaguá ao Arroio Chuí)

A costa muda de direção em Paranaguá, onde passa a seguir N. para S. As montanhas margeiam o oceano dando outro aspecto a êste trecho do litoral. Não se encontram mais as *Uca mordax* (Smith), mas ainda apresentam os guaiás do gênero *Panopeus*: *P. occidentalis* Sauss. *P. rugosus* A. M. Edw., *P. americanus* Sauss, *P. bermudensis* Bened. & Rathb., *Hexapanopeus caribbaeus* (Stimp.) *Eurypanopanopeus abbreviatus* (Stimps.).

O caranguejo branco *Ocypode albicans* Bosc. só é capturado até Florianopolis, o mesmo acontece com o *Sesarma retum* Randa. — carangueja quadrado — e com o caranguejo aranha do mar: *Inachoides Laevis* e o Porcellanidae *Minyocerus angustus* (Dana), estudada por Fritz Mueller em S. Catarina.

Como espécies características: *Pilumnus tessellatus* A. M. Edw. e a *Libinia gibbosa* A. M. Edw.

A caraca *Balanus amphitrite niveus* Darwin vive desde a Florida até S. Catarina.

Seção bio-oceanográfica: Cabo S. Marta Grande ao Arroio Chuí. A costa segue a direção de S O. O litoral é arenoso baixo, deserto, cheio de medões, da barra do Rio Grande para o Sul a costa apresenta um aspecto especial que tem a denominação local de "albardão". Terreno cenozoico, qua ternário atual. Em Laguna há uma corrente litoranea, vinda de N. para S., com predominio dos ventos do quadrante N E. que influíram na formação da peninsula arenosa a que se estende ao sul da ponta de Imbituba. Todo o litoral marítimo a partir do cabo de S. Marta até a barra do rio G. do Sul está nas mesmas condições.

Faunística: *Cyrtograpsus altimanus* Rathb. — da Patagonia ao Rio Grande do Sul. *Metaserarma rubripes* (Rathb.) Florida ao R. G. do Sul. *Libinia spinosa*: Patagonia ao Rio de Janeiro.

Pinnixa chaetopterana Stimp. do R. G. do Sul para o norte. Espécie autóctone: *Dissodactilus crinitichelis* Morei.

Distritos bio-oceanográficos à parte: os insulares: Fernando Noronha, com o guaiamu *Gecarcinus lagostoma* M. Edw., o aratú *Grapsus grapsus* (L.). Esta ilha marca o limite de área de dispersão de *Platypodia spectabilis*

(Herbs.) *Acthea acantha* (M. Edw.) *Leptodius parvulus* Fabri. e apresenta as espécies de distribuição geográfica descontínua: *Artemesia longinaris* S. Bate desta ilha e da Argentina.

BIBLIOGRAFIA

S. A. S. le Prince

Albert ler de Monaco

1902. La carrière d'un navigateur.. Publications diverses.

Challenger, H. M. S.

1873-76. Report on the Scientifics results of the voyage of the H. M. S. Challenger during the years 1873-76, under the command of Captain George S. Nares, R. N., F. R. S.
Reports on Zool. I — XXVII, XXVIII — XL.
Reports on the specifics gravity of samples of ocean water. XL — L.

Ekman, Sven

1935. Tiergeographie des Meeres. 1 vol. Leipzig.

Giesbrecht, W.

1892. Systematik und Faunistik der Pelagischen Copepoden des Golfes von Neapel und der Angrenzenden Meeres-Abschnitte. Text I, Atlas II.
Fauna u. Flor. G. Neapel, 19.

Hesse, R.

1924. Tiergeographie auf oekologischer Grundlage. Jena. 1 vol.

von Ihering, H.

1897. A ilha de S. Sebastião. Rev. Mus. Paulista, 2, 129-171.

1907. Arche-helenis und Archinotis (Geschichte der Neotroischen Region) Leipzig, 1 vol.

1927. Die Geschichte der Atlantischen Ozeans. Jena.

von Ihering, R.

1934. Fauna do Brasil.

Kruemmel,

1907. Carte Generale des Courants Marins. Stuttgart.

Leitão, Mello, C.

Zoogeografia do Brasil. Rio de Janeiro, 1 vol.

Lisboa, A.

1922. Litoral do Brasil, Dic. Hist. Geogr. Ethn. do Brasil, Vol. 1, 15 e seguintes.

LUEDERWALDT, H.

1919. Os Manguezais de Santos. Rev. Mus. Paulista, 11, 309-408.
1929. Excursão científica a S. Sebastião.
Rev. Mus. Paulista, 16, 3-79.

MIRANDA RIBEIRO, Alipio

1922. Distribuição geográfica da fauna do Brasil. Dic. Hist. Geogr. Ethn. do Brasil, 207.

MOREIRA, C.

1901. Crustáceos do Brasil. Arch. Mus. Nac. 11. 1-154.

MURRAY, J.

Carta batimétrica do Atlântico.

OLIVEIRA, A. I.

1938. Mapa Geológico do Brasil.

RATHBUN, M.,

1918. The Grapsoids Crabs of America. Bull. U. S. Nation. Mus. 97, 172 text fig., clxi pls.
1930. The Cancroids Crabs of America. Bull. U. S. Nat. Mus. 152, 609 ps., 230 pls. 85 figs. no texto.
1937. The Oxystomatous Crabs of America.
Bull. U. S. Nat. Mus., 166.
1925. The Spider Crabs of America.
Bull. U. S. Nat. Museum, 129.

RICHARD, J.

1907. l'Oceanographie (a S. A. S. le prince ALBERT I) Paris 1 vol.

RICHARDSON, H.

1905. Isopods. Bull. U. S. Nat. Mus. 54, 727 ps.

SARS, G. O.

1925. Copepodes. Res. Camp. Sci. S. A. S. le Prince ALBERT 1 er de MONACO., 69.

SAWAYA, P.

1939. Sôbre a mudança de côr nos crustáceos. Bol. Fac. Fil. Ci. Letr. Univ. São Paulo, 13, Zool. (3). 1-109.
1939. Animais cavadores na praia arenosa. Arq. Inst. Biolo. 10, Supl. 320-326.
1942. Comentários sôbre Crustáceos, Moluscos e Equinodermas. Cap. XIX a XXII do Livro IV da HISTORIA NATURALIS BRASILIAE de J. MARCGRAVE, trad. brasileira do Museu Paulista.

SCHOTT, G.

1902. Atlas. OCEANOGRAPHIE. *Oceanographie* und Maritime Meteorologie. Iena.

1926. Geographie des Atlantischen Ozeans. Hamburg.

THOULET, M. J.

1890. Oceanographie. 2 vols. Paris.

Carte générale bathymetrique des Océans. Publié sous les auspices de S. A. S. le Prince ALBERT 1 er. de MONACO.

Carte bathymetrique de l'Atlantique. Publis sous les auspices de S. A. S. le Prince ALBERT 1 er. de MONACO.

WILSON, C. B.

1932. The Copepods. Bul. U. S. Nat. Mus. 158, 623 ps., 41 pls. 316 figs. no texto.

Xenodiagnóstico na Habronemose dos Equídeos

Estudo das larvas do Helminto

pelos Drs.

Jônio F. de Sales e Jeth Jansen

(Com 20 figuras e uma tabela no texto)

Em necropsia de um cavalo estabulado nas cavalariças do Instituto Oswaldo Cruz, portador de uma esponja em fase inicial de evolução, foram encontrados nódulos, uns calcificados, outros não, no fígado, nos intestinos delgado e grosso, os quais, entre outras hipótese, poderiam representar localização errática de *Habronema sp.* Evidenciou-se, então, a necessidade de se conhecer qual a incidência da habronemose, nos equídeos em serviço do I. O. Cruz, e, com êsse fim, empregamos o xenodiagnótico.

Vários têm sido os processos propostos para tal fim. M. J. Mello & R. Cuocolo, Instituto Biológico de São Paulo (1943), sugeriram uma modificação do processo usado por Descaseux & Morel (1933), facilitando sobremodo o diagnóstico da habronemose gástrica.

Os autores francêses procediam da seguinte maneira: diluição em água de certa quantidade de fezes suspeitas, passagem do material assim tratado em tâmis de malhas finas, para evitar fragmentos grosseiros, decantação e eliminação do sobrenadante por sifonagem, colheita do material sedimentado no qual são semeados ovos de moscas de postura recente, prèviamente lavados em água morna. Exame posterior de larvas, pupas e moscas, a fim de pesquisar larvas de habronema. Mello 5 Cuocolo *sugerem a seguinte técnica*. (Figura n.º 1).

"Em recipientes metálicos cilíndricos, de 8 cm de altura e 5 cm de diâmetro, tendo as paredes internas parafinadas (para evitar oxidação e conseqüênte desgaste) colocamos as fezes a examinar até dois terços da altura do cilindro. Sôbre as fezes suspeitas depositam-se cerca de vinte ovos de mosca colhidos em enterqueira comum, tendo o cuidado prévio de limpá-los sumàriamente com pincel mole.

* Recebido para publicação a 13 de janeiro de 1945 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Para conservar o ambiente úmido em boas condições para o desenvolvimento das moscas, coloca-se uma camada de cerca de 2 cm de altura de algodão hidrofilo na parte superior da preparação, a qual deverá ser diàriamente umidecida. Êste procedimento evita o encharcamento das fezes, com água, o que até certo ponto dificultaria o desenvolvimento do inseto. O algodão de-

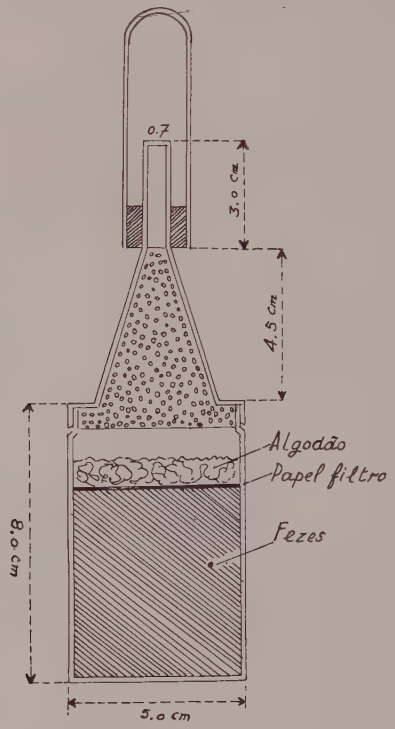


Figura n.º 1
Esquema do aparêlho idealisado por Mello & Cuoculo (1943)
Rolaud Simon del

verá ser colocado de maneira a deixar folgas laterais que permitam a saída fácil do inseto para a porção superior do recipiente. Para evitar que o algodão adira às fezes dificultando a operação diária de umidecimento, podemos dispor entre a camada de fezes e de algodão um disco de papel de filtro, de diâmetro inferior ao do cilindro metálico, de tal forma que deixe folga lateral suficiente para a passagem do inseto. Assim preparado, o recipiente é fechado com tampas metálicas especiais, em forma funil invertido. A bôca do

funil deve adaptar-se perfeitamente à do recipiente e suas paredes são providas de pequenos orifícios, insuficientes para o escape das moscas, mas suficientes para arejar o meio de cultura, propiciando melhores condições para o desenvolvimento do inseto. À haste do funil adapta-se por meio de uma rôlha de cortiça, um pequeno tubo de vidro".

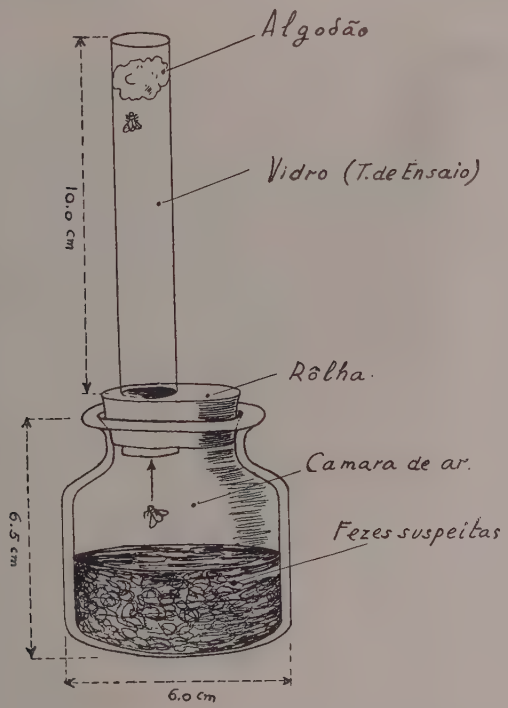


Figura n.º 2
Esquema do aparêlho, com dimensões e detalhes, em que realisamos o xenodiagnostico

Roland Simon del

As moscas adultas são retiradas do tubo de vidro, dissecadas em solução fisiológica e examinadas.

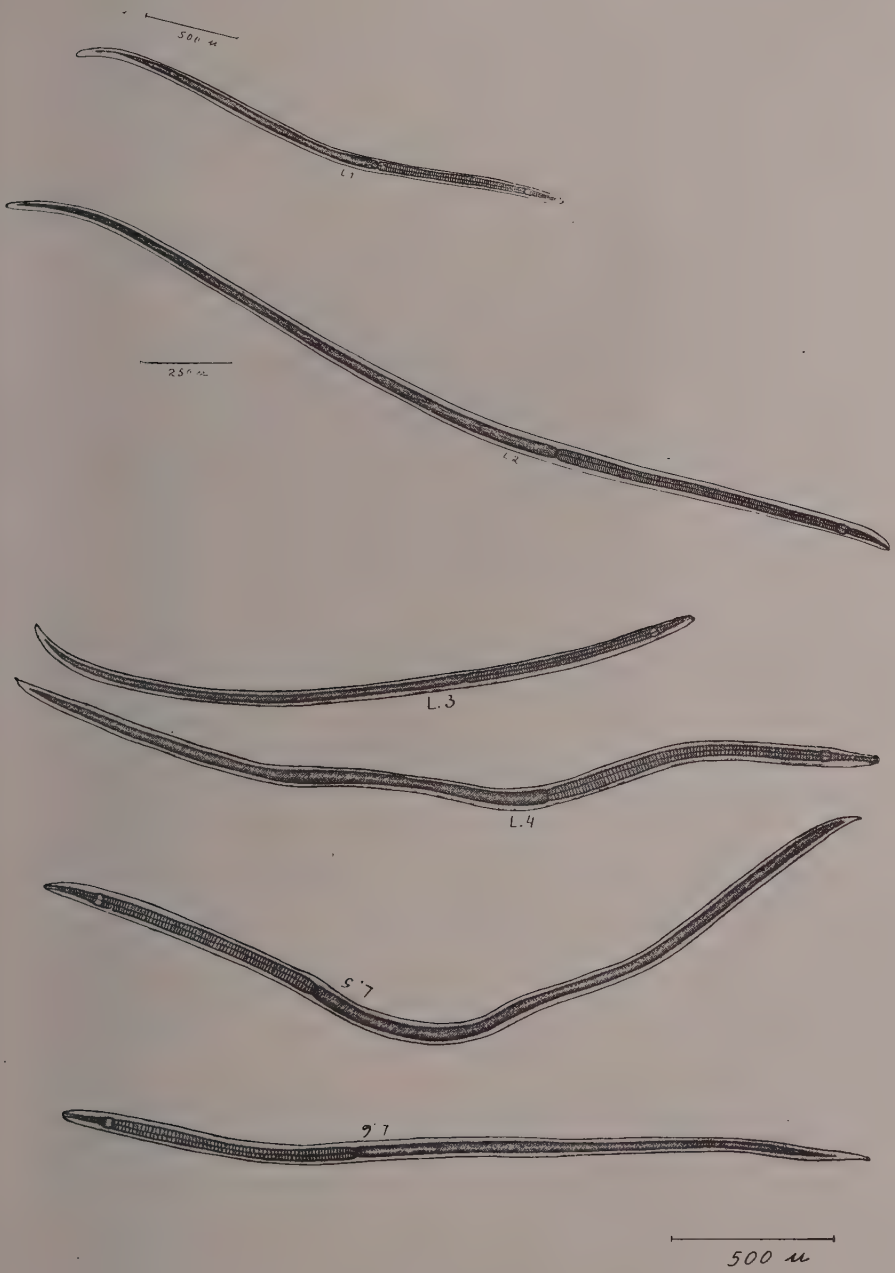
Embora a aparelhagem ideada por aqueles autores, preencha inteiramente os seus fins, procuramos simplificar a técnica, usando dispositivo mais econômico.

O aparelho que empregamos consta de: um vidro de boca larga medindo 8 cm de altura por 5 cm de diâmetro, um tubo de ensaio, rôlha de cortiça e algodão hidrófilo. (Fig. 2).

Coloca-se em vidro de bôca larga uma camada aproximadamente de 3 cm de fezes suspeitas, deposita-se sôbre as mesmas ovos recentes de mosca obtidos em macerato de alfafa depositado em placa de Petri, meio no qual as moscas fàcilmente depositam as suas posturas. As fezes devem ser umidecidas, 3 vêzes por semana, usando-se, para tal fim, mais ou menos 5 cc de água da bica, a fim de manter ambiente propício à evolução do inseto.

Figura n.º 3
Aparelhagem usada na realisação do xenodiagnostico
Fot. *J. Pinto*

A evolução das moscas neste recipiente se processa perfeitamente, não havendo necessidade de tornar o vidro escuro, pois as moscas adultas procuram ganhar a porção superior do vidro, penetrando no tubo de ensaio, obstruído em sua extremidade superior por algodão, o que permite o arejamento do recipiente, evitando fermentações.


L.1
L.2
L.3
L.4
♂ 7
♀ 7
500 u

As moscas adultas, capturadas no interior do tubo de ensaio, são mortas por umidecimento do algodão com gotas de éter.

Não é necessário dissecar os insetos, bastando o exame da cabeça, esmagada entre lamina e lamínula, região do inseto onde a totalidade das larvas se acumula, na fase terminal de sua evolução.

Fizemos, também, com resultados satisfatórios a técnica preconisada por MAGARINOS TORRES (1925), baseada no hematotropismo das larvas de habronema. Nesta técnica, de acôrdo com o autor, usamos vidros de relógio contendo mais ou menos 1 cc de sangue de cavalo desfibrinado, onde as larvas,, no caso de existirem, eram evidenciadas ao microscópio binocular (entomológico).

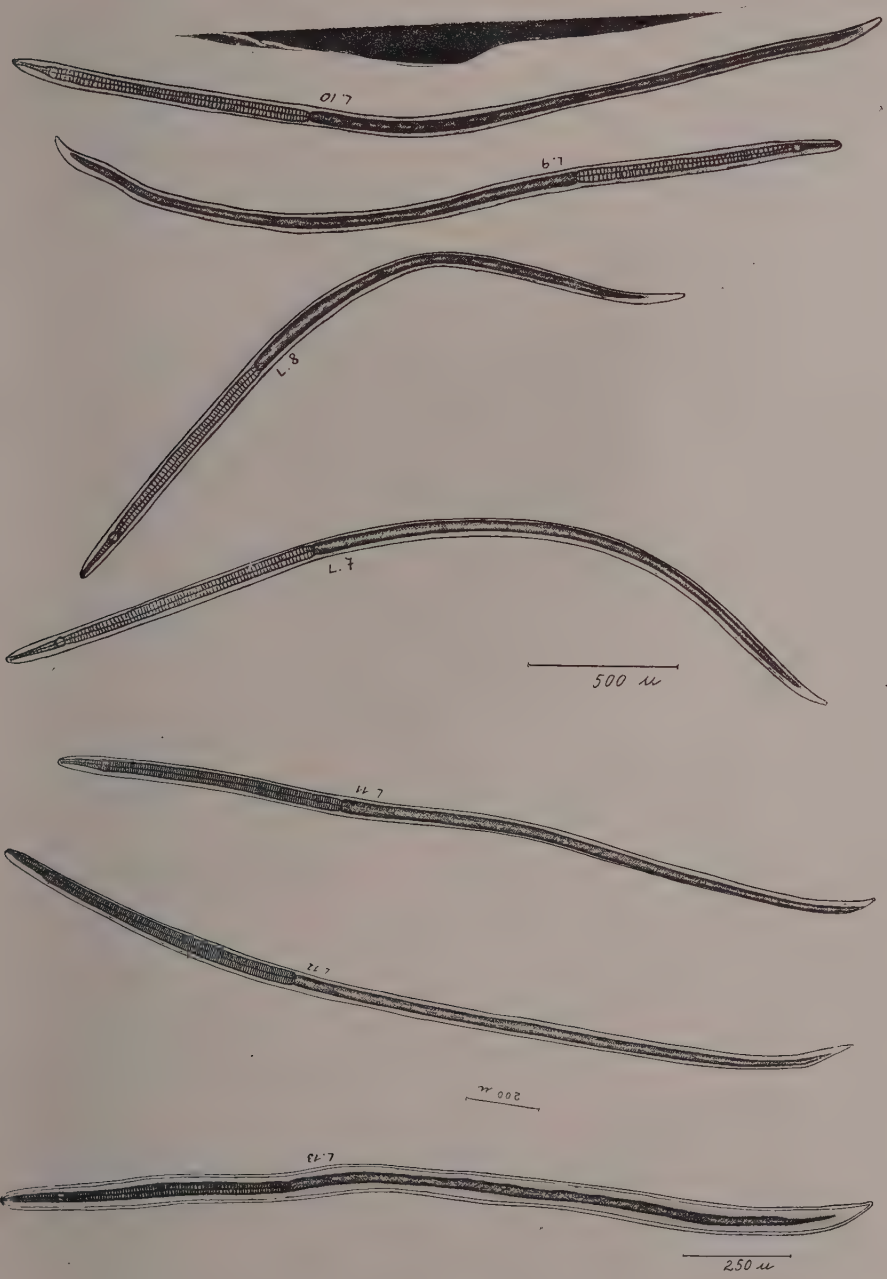
Realizamos o xenodiagnóstico com as fezes de 87 animais, sendo 85 cavalos e 2 muares. 85 animais tiveram o xenodiagnóstico positivo e 2 negativo, ou seja 96,6% e 2,2%.

DESCRIÇÃO DAS LARVAS DE HABRONEMA

As larvas de habronema, que tivemos ocasião de estudar, possuíam as características que passamos a descrever.

Relativamente ao comprimento e a espessura das várias larvas, confeccionamos a tabela que se segue, obtida pela medida de 17 larvas:

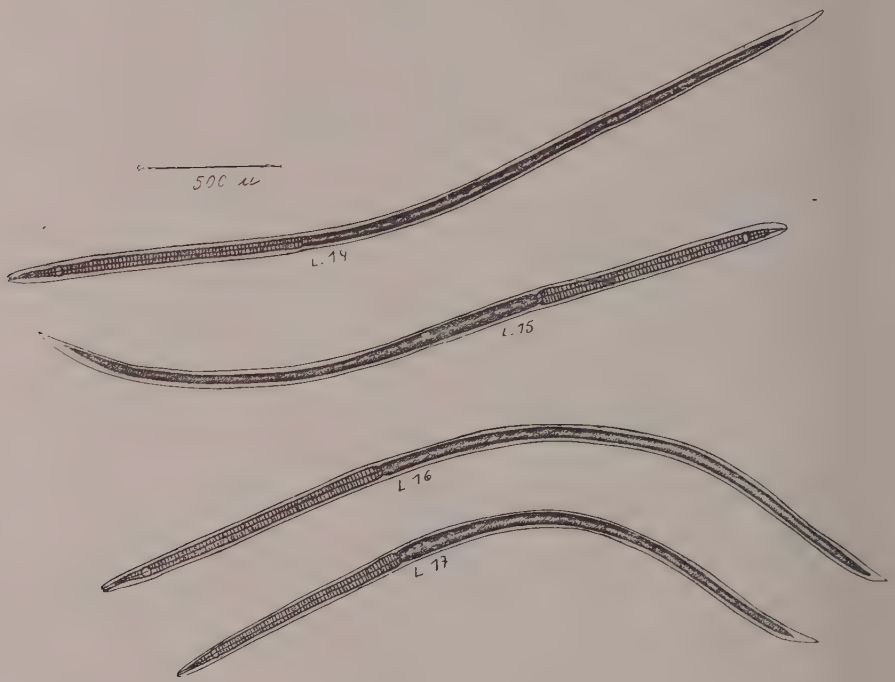
ORDEM	COMPRIMENTO	ESPESSURA
larva n.º 1	3,020 mm	83 μ
" " 2	2,360 "	66 "
" " 3	2,003 "	77 "
" " 4	3,320 "	91 "
" " 5	3,169 "	87 "
" " 6	2,750 "	68 "
" " 7	2,410 "	67 "
" " 8	2,790 "	70 "
" " 9	856 μ	46 "
" " 10	3,090 "	88 "
" " 11	2,813 "	73 "
" " 12	936 μ	51 "
" " 13	2,393 mm	65 "
" " 14	3,570 "	132 "
" " 15	3,178 "	91 "
" " 16	2,710 "	65 "
" " 17	3,840 "	117 "


L.10
L.9
L.8
L.7
500 μ
L.11
L.12
200 μ
L.13
250 μ

As larvas apresentam normalmente um faringe simples, pouco profundo e desprovido de órgãos ou apêndices, seguido de um esôfago, também simples em sua estrutura.

A uma distancia que varia de 120 a 160μ da extremidade anterior do corpo, o esôfago está circundado por um anel conjuntivo. O intestino é simples e termina por uma abertura anal pouco saliente, o que torna difícil a sua evidenciação.

O côrpo das larvas terminam, de um modo geral, afiladamente.



CONCLUSÕES

1.ª) Em 87 animais (equídeos e muares) estabulados, do dia 16 de agôsto ao dia 26 de novembro de 1944, nas cavalariças do Instituto Oswaldo Cruz, o xenodiagnóstico para habronemose mostrou-se positivo em 96,6%.

2.ª) O dispositivo usado para sua realização pode ser muito simplificado e, de fato, construido com vasilhame geralmente disponível nos laboratórios.

3.ª) Ao contrário do que afirmam certos autores, não nos foi possível identificar as espécies produtoras de habronemose ùnicamente pela morfologia das larvas obtidas pelo xenodiagnóstico.

E' possível que em tempo futuro o estudo completo do grupo permita a identificação do nosso material.

4.ª) Apresentamos desenhos e organizamos uma tabela com dados relativos ao comprimento e espessura das larvas estudadas.

SUMMARY

Xenodiagnosis for habronemosis was 96,6% positive in 87 stud horses at Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, from July-November, 1944.

The A A. were unable to identify the *Habronema* larvae obtained from parasitider fly maggots.

Measurements and drawings of the larvae are presented.

LITERATURA CITADA

RANSOM, B. H.

1913. The life History of Habronema Muscae (CARTER), a parasite of the horse transmitted by the house fly.
U. S. Department of Agric. Bur. of. An. Ind., Bulletin 163.

DESCAZEAUX & MOREL

1933. Diagnostic biologique (xenodiagnostic) des Habronemoses gastriques du cheval. Bull. Soc. Path. Exot. 26 : 1.010-1.014.

MAGARINOS TORRES, C.

1925. L'hematotropisme des larves mûres d'Habronema muscae (CARTER, 1861). C.r. Soc. Biol. 93 : 38.

MAGARINOS TORRES, C.

1925. Habronemose cutanée des equidés. C.r. Soc. Biol. 33 : 35.

MELLO, J. M. & CUOCULO, R.

1943. Técnica para o xenodiagnóstico da Habronemose gástrica dos equídeos. Arquivos do Inst. Biol. de S. Paulo, 14 : 217-226.

Consignamos, aqui, os nossos agradecimentos aos Professôres Lauro Travassos, C. Magarinos Tôrres e Hugo Souza Lopes, pela solicitude com que sempre nos atenderam, no decorrer de nossas experimentações.

Agradecemos, também, aos desenhistas E. Fonseca e A. Pugas, a quem devemos os desenhos das larvas que ilustram o presente trabalho.

As leprolinas Souza Araujo — seu emprego — Resultados em comparação com a reação de Mitsuda

pelo

Dr. Paulo Cerqueira R. Pereira

Diretor do Leprosário de Marituba, do Pará

Teve o Dr. H. C. de Souza Araújo a gentileza de remeter-nos, em fins de 1943, algumas empôlas de antígenos confeccionados com bacilos isolados de leprosos, para experimentação e observação dos resultados.

Não tendo recebido, simultâneamente, instruções e detalhes sôbre o seu emprêgo, o que só teve lugar em março do corrente ano, iniciei a sua aplicação no fim de maio, prosseguindo a observação dessas inoculações até 6 de julho.

Para aplicação dos antígenos e observação dos resultados, escolhi inicialmente duas turmas, uma de cada sexo e dentre cada uma destas um grupo de indivíduos não bacilíferos e outro de bacilíferos. Dos não baciliferos vários, há cêrca de 1 a 2 anos ainda eliminavam bacilos de Hansen, quer pelo muco, quer pelas lesões apresentadas ou por ambos simultâneamente. O primeiro grupo compreende 28 pacientes e o segundo 29. As injeções foram praticadas nesse 1.º grupo no dia 26-5-44 e a observação dos fenômenos apresentados se estendeu nos dias seguintes até 6-7-44, data em que puderam ser consideradas como desaparecidas, restando, num ou noutro, apenas cicatrizes.

Realizada a intradermoreação, observamos os fenômenos apresentados em cada ponto, anotando-os para posterior apreciação, tanto na sua intensidade, extensão, sensibilidade etc., como no aspecto e evolução, tendo em vista a forma da doença, registrando gràficamente, de acôrdo com as convenções propostas pelo eminente professor Dr. H. de Souza Araújo. Pelo quadro a seguir vemos os resultados registrados dia a dia, bem como as diferenças apresentadas pelos diversos antígenos em estudo, no primeiro grupo:

Quadro I — casos não bacilíferos.

No segundo grupo, Casos bacilíferos, observamos o que se vê no quadro adiante.

Os fenômenos observados, de modo geral, constam de eritema mais ou menos extenso, com duração de alguns dias, regredindo a seguir. Raramente o aparecimento dêsse eritema é tardio, 8 a 12 dias após a injeção do antígeno;

* Recebido para publicação a 8 de fevereiro de 1945 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

formação de nódulos mais ou menos duros, variáveis na extensão, de acôrdo com a reação dos tecidos; supuração e perda de tecidos, raras vêzes; alguns pacientes se queixaram de dor moderada nos dias seguintes às injeções e casos mais raros apresentaram ligeira elevação térmica.

Resumindo agora a positividade observada no primeiro grupo — casos não bacilíferos e alguns até curados de lepra — vemos que dos 28 casos em observação 3 não reagiram à inoculação de qualquer dos antígenos ou, noutros têrmos:

Foram inteiramente negativos	3	
Positivos para só um dos antígenos	3	(Antígeno 4)
" " dois " "	6	(1 e 4,5 e 1-5,1)
" " três " "	1	(1,4 e 5)
" " quatro " "	0	
" " cinco " "	0	
" " todos os "	15	

Apresentaram Pt. 4 casos, dos quais para um só antígeno 4 (ant. 4) e diante 3 antígenos 1 (1, 4 e 5).

No segundo grupo (casos bacilíferos) os resultados se resumem:

Negativos	3	
Positivos para só um dos antígenos	2	(1a -1, 4-1)
" " dois " "	10	(1 e 4-5, 1ª e 4- 1, 4 e 5- 4)
" " três " "	6	(1,4 e 5-4,5 e 1a -1, 5a 4e5-1)
" " quatro " "	3	1,1a, 4e5-2, 1, 4, 5e5a -2)
" " cinco " "	4	(1,1a,3, 4 e 5-2, 1, 1a, 4, 5e5a-2)
" " todos os "	1	
Total " "	26	doentes positivos.

Mostraram Pt. — 7 casos com o antígeno 4; 4 com 1, 1, com 1 e 4, 2,

Fazendo-se um estudo comparativo dêsses dois quadros vemos que dentre 28 casos não bacilíferos houve três negativos e 15 que reagiram positivamente diante todos os antígenos e que o antígeno n.º 4 figurou dentre os casos positivos 25 vêzes.

No segundo grupo, — casos bacilíferos — o numero de casos negativos foi igual — 3 e só um apresentou positividade diante todos os antígenos. Aqui ainda o antígeno 4 provocou reação positiva 26 vêzes.

Os demais antígenos deram lugar a reações positivas na seguinte ordem:

1.º Grupo — Antígeno	1	em	21	doentes
"	1a	"	16	"
"	3	"	15	"
"	4	"	25	"
"	5	"	17	"
"	5a	"	15	"
2.º Grupo — Antígeno	1	"	17	"
"	1a	"	10	"
"	3	"	2	"
"	4	"	26	"
"	5	"	18	"
"	5a	"	5	"

A reação com a lepromina de Mitsuda feita algum tempo mais tarde abrangeu vinte e oito (28) dos casos em estudo e mais um grupo de doentes não bacilíferos, dentre os quais existiam alguns candidatos á alta. Os casos bacilíferos não foram injetados com a lepromina.

Os resultados anotados foram, conforme se vê da comparação dos quadros I e III — concordantes 13 vêzes e discordantes 14 dos quais 10, em parte e 4 no todo. Um caso não pôde ser levado em conta por ter falecido, repentinamente, no dia seguinte à intradermoreação com a lepromina.

Os casos de reações com resultados *discordantes em parte* são: caso 4, em que a Mitsuda positiva (++) e as leprolinas 1a, 3 e 5a foram negativas; caso 5, no qual a Mitsuda foi negativa e as leprolinas 1 e 4 foram positivas; caso 6 em que a Mitsuda foi positiva (++) e as leprolinas 1, 1a, 3 e 5a foram negativas; caso 7 onde a Mitsuda foi negativa e as leprolinas 4 e 5 foram positivas; casos 8 e 9 — Mitsuda positiva — (++) — e leprolina 1, 1a, 3, 5 e 5a negativas; caso 18 — Mitsuda positiva — (++) — e leprolinas 1a, 3, 5 e 5a negativas; caso 20 — Mitsuda negativa e leprolinas 1 e 4 positivas, havendo Pt. em 4; casos 23 e 26 — Mitsuda positiva (++) e leprolinas 1a, 3, 5 e 5a negativas.

Os casos inteiramente discordantes são representados pelos números: 3 e 4 — (M. E. F. S. e A. L. F.) em que a Mitsuda foi — 0 — (negativa) e as leprolinas — positivas havendo em 4 com Pt.

Casos 22 e 28 — M. S. G. e B. N. — em que as leprolinas deram resultados negativos e a Mitsuda foi positiva (+) e (++), respectivamente.

QUADRO III

REAÇÃO DE MITSUDA

N.º	NOME	IDADE	DATA	25/8/44	2/9/44	9/9/44	19/9/44	27/9/44	5/10/44	12/10/44
1	L. A. F.	17 anos	24/8/944	⊕	+	++	++	++	++	Em regressão
2	E. L. A.	12 »	24/8/944	++	++	+++	+++	+++	Em regressão	
3	M. E. F. S.	15 »	24/8/944	0	0	0	0	0	Idem	
4	J. B. S.	10 »	24/8/944	+	+	+	++	++	Em regressão	
5	R. J.	15 »	24/8/944	0	0	0	0	0		
6	V. G.	11 »	24/8/944	+	+	++	++	++	Em regressão	
7	T. J. S.	6 »	24/8/944	0	0	0	0	0		
8	B. M.	13 »	24/8/944	0	⊕	+	+	++	++	Em regressão
9	H. G. B.	16 »	24/8/944	⊕	+	++	++	++		Em regressão
10	M. C. M.	14 »	24/8/944	⊕	⊕	+	+	+		Em regressão
11	R. A. M. C.	42 »	24/8/944	⊕	+	++	++	++		Em regressão
12	R. N. C.	16 »	24/8/944	+	+	++	++	++		Em regressão
13	J. C. C.	29 »	24/8/944	+	+	+++	+++	+++	+++	Em regressão
14	C. L. B.	43 »	24/8/944	⊕	+	++	++	++	++	Em regressão
15	D. D. A.	42 »	24/8/944	0	0	0	+	++		Em regressão
16	E. T. C.	32 »	24/8/944	++	++	+++	+++	+++	+++	Em regressão
17	A. L. F.	24 »	24/8/944	0	0	0	0	0		Em regressão
18	R. T. P.	45 »	24/8/944	+	+	++	++	++	++	Em regressão
19	J. D. M.	44 »	24/8/944	+	+	++	++	++	++	Em regressão
20	A. J. P.	40 »	24/8/944	0	0	0	0	0		
21	J. P. N.	48 »	24/8/944	+	+	+	+	+	+	Em regressão
22	M. S. G.	17 »	24/8/944	⊕	+	+	+	+		Em regressão
23	L. C. S.	34 »	24/8/944	+	+	++	++	++	++	Em regressão
24	S. R. X.	52 »	24/8/944	Falecido nesta data						
25	J. E. S.	43 »	24/8/944	—	+	++	++	++	++	Em regressão
26	M. J. P.	33 »	24/8/944	+	+	+	+	++	++	Em regressão
27	P. F. M.	57 »	24/8/944	++	++	++	++	++	++	Em regressão
28	B. N.	37 »	24/8/944	+	+	++	++	++	++	Em regressão

Parece-nos, pois, diante dos resultados configurados nos quadros I e II, bem como nos quadros II e III que duas conclusões podem ser estabelecidas:

1.ª — O antígeno n.º 4 provoca em todos os casos de lepra a mesma reação e esta é sempre positiva.

2.ª — A reação do organismo leproso diante da lepromina de Mitsuda e das leprolinas Souza Araujo não é concordante, havendo casos em que o mesmo indivíduo reage positivamente diante de uma e negativamente na presença das outras e vice-versa.

MARITUBA, 18 de dezembro de 1944.

Nº.	NOME	IDADE		16	17		OBSERVAÇÕES
1	L. A. F.....	17 A.		Idem			Dia 28 houve formação de eritema semelhante no ponto da injeção dos antígenos. A 29 o eritema era mais vivo, virando para o violáceo. No dia 31 diz a paciente ter sentido dor e formaram-se nódulos. A 5 todos esses sinais entraram em regressão.
2	E. L. A...-..	12					O eritema inicial desapareceu nos focos 1, 3 e 3. A 31 vêem-se nódulos endurecidos com pequena área circundante eritematoza. 4 e 5 entraram em regressão.
3	M. E. F. S...	15					A 28 ligeiro eritema local. No dia 2 êsse eritema era muito acentuado formando-se nódulos nos focos, entrando em regressão a partir do dia 3, com reação da 4 que veio ulcerar no dia 6. Entrou em regressão dia 4 e 9 estavam em via de desaparecimento.
4	J. B. S.....	10					
5	R. I.....-.	15					
6	V. G.....	11					Entrou em regressão a partir do dia 3, desaparecendo a 10, com excessão da 4 onde se formou nódulo duro.
7	T. J. S.....	6					Formação de nodulos perceptiveis a 10, entrando em regressão a partir dêste tempo.
8	B. M.....	13					Em 4 houve formação de nódulos que persistem.
9	H. G.....	16					
10	M, C. M.....	14					1,4 e 5 supuraram sendo esta mais forte em 4. As demais foram positivas. A 4 persistiu sob forma de nódulos até 26-6-944.
11	R. A. M. C..	42					
12	R. N. C..-..	16					Eritema medindo 2-3 cm. em tôrno do ponto injetado.
13	J. C. C.....	29					Eritema medindo 4-5 cm. em tôrno do ponto injetado.
14	C. L. B.....	43		—	Em regressão		Eritema medindo 3-5 cm. queixou-se de dor.
15	D. D. A.....	42					Eritema medindo 3-5 cms.
16	E. T. O.....	32					Eritema medindo 3-5 cm.
17	A. L. F.....	24					Eritema medindo 2-5 cms.
18	R. T. P.....	45					No 13.º dia formaram-se umas pequenas pustulas sôbre as inoculações 3 e 5. Eritema de 3-5 cms. diâmetro.
19	J. D. M.....	44					No 11.º dia ulcerou a 4.ª. Eritema de 1-3 cms.
20	A. J. P.....	40					Eritema de 1 cm. 3,5, 2 cms. em 4, e 5 cms. em 1.
21	J. P. N.....	48		Em regressão	Idem	Idem	A 4 ulcerou no 3.º dia e a 1 no 13.º.
22	M. S. G.....	17					Eritema de 1 cm.
23	L. C. S.....	34		— —	— —	Pequenos nódulos	Eritema de 2-5 cms. Sensação de dor.
24	S. R. X.....	52					Eritema de 1 cm.
25	J. E. S.....	43					Eritema de 1-3 cms.
26	M. J. P.....	33					Eritema de 2-5 cms.
27	P. F. M.....	57					Eritema acentuado 5 cms. diâmetro.
28	B. N.....	37			Pequenos nódulos		Eritema acentuado 1-3 cms.

S)

13	14	15	16	17	19	22	26	OBSERVAÇÕES
—	—	—	—	—	4-P.t	Em regressão	Idem	
		—	—	—	Idem			
Cicatrizadas								
Desaparecidas								
—	Apparecimento de nódulos	Idem —	Idem	Idem	Em regressão	Idem	Idem	
—								
Idem	Em regressão						Desaparecidas	
—	—	Desaparecidas	—	—	—	—		
	•		—	—	—	—		
—	—	Desaparecidas						
—	—							
Idem	Idem						Desaparecidas	
Idem	Idem	Idem	Pequenos nódulos em tôdas	Idem	Idem	Desaparecidos		
								Diz ter aparecido ligeira reação febril.
—	—	—	—	—	—	Desaparecidas		
Idem	Idem	Idem	1a - As demais	Idem Idem	Em regres- Idem	Idem Idem	Desaparecidas	Eritema mais acentuado em 1,1a e 4.
							Pequennos nódulos	
—								
4-Pt. Idem	Idem Idem	Idem Idem	Em regressão				1 e 4-Nódulos	
—	—	—					Desaparecidas	Queixou-se de febre no dia seguinte ás injeções.
Em regressão		—						A 6 eritema-tardio.
Idem	Desaparecidas							Queixou-se de dôr moderada.
Nódulos								
—	—	—	Em regressão				Desaparecidas	
—	—	—						
								Er.tema de 1 a 4 cms. sendo maior em 4.

Estudos e revisão dos principais testes para diagnóstico da gravidez

II. Testes químicos (*)

por

Maria Isabel Mello

Ao mesmo tempo que o teste de Aschheim e Zondek sofria modificações no sentido de diminuir seu tempo de leitura, vários pesquisadores ensaiavam técnicas químicas que pudessem dar com a mesma precisão e em menos tempo, um diagnóstico seguro de gravidez.

Como assinalámos no trabalho anterior (49), alguns testes biológicos oferecem uma grande sensibilidade, e podem ser realizados em um período curto. Porém todos exigem manutenção de colônias grandes de animais para que possam ser mantidos nas condições requeridas.

E' interessante verificar que as substâncias sujeitas a modificações no metabolismo da gravidez têm sido propostas como reações indicativas dêste estado. Assim, a histidina, a histamina, o ácido hipúrico e a amônia, as relações entre a creatina e a histidina, as substâncias redutoras, presentes na urina em grande quantidade, vem sendo objeto de estudos cuidadosos. O aumento das atividades da diamino-oxídase, da histidinase e da histaminase são elementos que têm servido de base diagnóstica. Ao lado dêstes métodos incorporam-se, com mais segurança, aquêles baseados na eliminação de hormônios no início da gravidez. As técnicas demonstrando ou determinando a presença e quantidade de gonadotrofinas ou de glicuronato sódico de pregnandiol, as reações coradas para verificação dos estrogênios, são meios que se têm procurado para a realização de um teste seguro, eficiente e rápido.

Faremos de todos êstes métodos um ligeiro histórico e daremos em detalhe a técnica da histidina da qual temos maior experiência e que nos ofereceu resultados satisfatórios depois do primeiro mês de gravidez.

Histidinuria.

Em 1929, Voge (72), verificando a conexão entre os produtos elaborados pela hipófise e os compostos do tipo beta — iminazol (histamina, histidina

(*) Trabalho da Divisão de Química e Farmacologia — Chefe Dr. Gilberto G. Villela.

* Recebido para publicação a 8 de fevereiro de 1945 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

e tetelina), pensou em verificar a presença destas substâncias na urina de mulheres grávidas.

Êste autor empregou uma modificação da técnica de KNOOP para determinação da histidina. Na urina de 60 mulheres grávidas foi sempre encontrado êste amino-ácido. Os resultados obtidos foram controlados pelo teste de Aschheim-Zondek numa percentagem de 98% correto-positivas (Chamamos correto-positivas aquelas reações em que há gravidez; falso positiva é a reação positiva sem gravidez). A técnica é muito simples. A água bromada agindo sôbre a urina aquecida desenvolve a formação de côr róseo-avermelhada devido à presença da histidina. Nos casos negativos não há produção de côr.

HANNAN (32), em 1930, repetindo o teste de VOGE, obteve em 643 casos de gravidez 95% de resultados correto-positivos, em 117 não grávidos 98% corretos negativos, em 100 homens, 96% corretos negativos. As exceções foram assinaladas em casos de pericardite e pleurisia. Verificou que adicionando à urina xantina, hipoxantina, aloxana, aloxantina, cafeína, arginina e uréia não obtinha reação, enquanto a adição de 0.06 a 0.12% de histidina ou histamina provocava uma reação positiva.

A reação foi ainda positiva com urinas de 3 a 5 dias após o parto.

Em vista dos excepcionais resultados obtidos por VOGE (72), HANNAN (32), DODDS (12), SIDDAL, HU e HA e WONG (65), ARMSTRONG e WALTER (2), YOUNG (77) outros autores empregaram o teste sem conseguir entretanto a mesma percentagem ótima.

De 1933 a 1941, KAPELLER-ADLER e col. estudaram a reação minuciosamente, sugerindo modificações sucessivas visando obter uma técnica para a dosagem quantitativa da histidina. Procuraram ao mesmo tempo determinar o seu período de ocorrência, seu mecanismo de formação e eliminação e os casos em que o seu aumento pudesse falsear os resultados.

Normalmente, a histidina é um produto do metabolismo das proteínas, desdobrada no fígado sob a ação de um fermento específico, a histidinase (16). Na gravidez, o hormônio gonadotrófico aumentado inibe a ação da histidinase permitindo, assim, que a histidina seja eliminada pelos rins em quantidades apreciáveis que facilitam a sua determinação na urina. A dieta também influi neste aumento (39).

A inibição da histidinase ou histídase pelo "prolan" é proporcional à dóse (37), (38), (39). A histidinuria está portanto intimamente relacionada ao aumento das substâncias gonadotróficas, sendo a sua presença verificada na urina desde a 1.ª semana após a omissão da menstruação até uma semana depois do parto.

Em 1933, KAPELLER-ADLER isolou a histidina da urina de grávidas e apresentou uma nova técnica que modificou mais tarde para sua determinação quantitativa (34). A última, que é mais simples, vem sendo empregada por vários autores (35), (36) e (41). Citaremos, entre êles, OHLIGMACHER (53), WEISS (74), RENTON (58), STERN (67), SEIDMANN (64), BICKEL (3), GERTLER (22), NEUHARDT (50), SAKAGUCHI (60), NIENDORF (52), NEUWEILER e GRIMM (51), RACKER (57), LANGLEY (45),, KRAUS e KOENINGSTERN (43), PLOTZ (55), GOODFRIEND e DANIEL (23) e outros. Os resultados obtidos por êstes autores foram reunidos no quadro I.

A determinação da histidina pela técnica de KAPELLER-ADLER exige um número maior de reativos e mais tempo que a técnica preconisada por VOGE, porém é mais sensível. Adotamos a técnica de KAPELLER-ADLER (41) que passamos a expôr.

Princípio do método.

A primeira urina da manhã alcalinizada e livre de nítritos é aquecida e adicionada do reagente bromo que desenvolve uma côr amarelo-avermelhada.

Liberta-se a urina do excesso de Br e junta-se a solução amoniacal. Aquece-se o tubo, e se houver histidina na urina desenvolve-se um anel vermelho-violeta. Na ausência de histidina forma-se um precipitado pardo.

Reativos.

1. Solução $H_2 SO_4$ a 10%.
2. Solução $MnO_4 K$ 1%.
3. Reagente Bromo 1% (Água destilada 66 ml adicionada de 1 ml de bromo puro e 33 ml de acido acético glacial).
4. Solução de carbonato amoniacal. 10 grs. de carbonato de amónio em 90 ml de água destilada. À solução adicionar 200 ml de amónia pura liquida.
5. Iodeto de potássio. Papel de amido.

Técnica.

Tomam-se 5 ml da urina da manhã e verifica-se o pH; se fôr alcalino acidifica-se com 1 ou 2 gôtas de ácido sulfúrico a 10%. Removem-se os nítritos da urina acidificada oxidando-a a quente por meio de uma solução de permanganato de potássio que se junta, gôta a gôta, até o aparecimento de uma côr levemente rósea. Esta desaparece em 30 segundos. Caso se tenha

adicionado um excesso de permanganato há formação de um precipitado pardo de peróxido de manganês que se desfaz aquecendo o tubo até a fervura em banho-maria. Se êste tratamento não der resultado filtra-se a urina ou repete-se com uma nova amostra.

À urina clara adiciona-se lentamente, gôta a gôta, o reagente bromo até o aparecimento de uma côr amarelo-citrina. Um grande excesso de bromo inibe o desenvolvimento da côr. Porisso deve-se verificar se há um excesso de bromo no tubo. Toma-se uma gôta da solução, mais uma gôta de amido e uma gota da solução de iodeto de potássio. Se não der coloração, junta-se um pouco mais do reagente e pode-se continuar a reação. Dando uma reação levemente violeta não há excesso de Br. Se houver coloração azul, aquece-se durante 5 minutos até a libertação completa de bromo.

Adiciona-se 1 ml da solução amoniacal pelas paredes do tubo e se aquece 2 minutos em banho-maria fervente.

Se houver histidina na urina, há formação de côr vermelho-violeta que se desenvolve ràpidamente em todo o líquido e é estável. Quando a reação é negativa forma-se um precipitado pardo.

Resultados.

Em 67 urinas suspeitas de gravidez por nós estudadas tivemos 3 casos falsos negativos. No primeiro a eliminação de gonadotrofinas determinada pelo nosso teste químico (1) e confirmado pelo teste biológico foi de 630 U.C. por litro. Em outro caso foi verificada uma eliminação de 480 U.C. por litro de urina e no terceiro caso não determinamos a quantidade de hormônios gonadotróficos eliminados. Tôdas as reações observadas foram biológica e clìnicamente confirmadas. Donde se seduz que no início da gravidez quando a eliminação hormonal é baixa o teste da histidina não é aconselhável.

Em urinas de homens e mulheres normais tivemos um caso falso positivo. Êste era de mulher ovariectomizada.

Kapeller-Adler verificou que nos casos de toxemia e eclampsia a histidinuria é negativa, fato êste verificado por outros autores (40), (41). Nos casos em que há infecção pelo Bacilo coli a histidinuria também apresenta-se diminuída (Racker) (1941) (56).

Assim concluímos, com Seidman (64), Gertler (22), Krieger (44) e Langley (45) que o teste da histidina só é positivo na gravidez mais adiantada, não podendo assim ser recomendado para o diagnóstico precoce.

No quadro I encontram-se os resultados obtidos por alguns autores com as técnicas de VOGE e KAPELLER-ADLER.

QUADRO I

HISTIDINURIA

AUTOR	ANO	N.º DE CASOS	RESULTADOS CERTOS — %	
			Grávidas	Normais
Voge	1929	60	95%	98%
Hannan	1930	860	95%	98%
Dodds	1930	229	74,3%	86,9%
Siddal e col.	1931	260	75%	92%
Young	1933	519	63%	84%
Kapeller-Adler	1933			
Weiss	1934			
Ohligmacher	1934		62%	95%
Ferrari e Francis	1935			
Renton	1935	100	93%	
Seidman	1935	199	92%	75%
Gertler	1936			
Neuhardt	1938			
Sakaguchi	1940			
Kraus e Koenigstern	1941			
Goodfriend e Daniel	1943	56	91%	
Mello	1943	67	95,2%	

Histaminemia.

A inativação da histamina pelo sôro de mulheres grávidas foi assinalado por WERLE e EFFKEMANN (76) que verificaram ser típica na gravidez. Êste poder de destruição da histamina aumenta até ao 7.º mês. Após a expulsão da placenta a taxa de histamina aumenta. Provàvelmente êste fato deve ser importante na regulação da dor e do parto.

Determinando o teor de histamina no útero e no sangue do embrião e materno, WERLE e colaboradores encontraram valores muito baixos no sôro. Entretanto, quantidades consideráveis de histamínase foram determinadas no sôro e no útero de grávidas. Isto explica a destruição da histamina nestes tecidos (75). AHLMARK (1) verificou que a histamínase aumenta desde a 7.ª semana após a última menstruação e atinge 500 a 1.000 vêzes o teor normal nos últimos mêses.

A destruição da histamina não foi verificada em nenhum outro caso. (17) Isto torna o aumento da histamínase específico na gravidez, sugerindo o seu aproveitamento como teste diagnóstico.

Relação Histidina — histamina.

E' interessante notar que enquanto a histidina é eliminada em grandes quantidade na gravidez, o mesmo não se verifica em relação à histamina (76).

KAPELLER-ADLER (40) admite que o aumento das substâncias gonadotróficas na gravidez seja a causa da não destruição da histidina que não sofrendo a desaminação é eliminada em grandes quantidades pelos rins.

WERLE (75) em 1938, achou que os tecidos animais, especialmente os rins, continham um enzima que denominou de descarboxílase da histidina. Êste é capaz de transformar a histidina em histamina pela descarboxilação da primeira. A presença da descarboxílase da histidina explicaria a diminuição da histidinuria nos casos de toxemia e eclampsia. A histidina sofrendo descarboxilação transforma-se em histamina, que é excretada em taxa elevada pela urina. Em casos de ameaça de abôrto diminui o poder histaminolítico do sangue o que é um sinal prognóstico característico (1).

Diamino-oxídase.

ZELLER e BIRKHÄUSER em 1940, (78) verificaram que a atividade diamino-oxidásica do sôro de mulher grávida está aumentada em uma concentração idêntica à da histamínase.

A diamino-oxídase pode ser verificada colorimétrica e manomètricamente. O consumo de O^2 durante a reação do sôro com cadaverina 0,01M ou com H_2 O_2 é determinada manomètricamente. Consideram uma unidade de diamino-oxídase 1 gr. do substrato enzimático que oxida 16-^6M em 1 hora. Os valores encontrados na gravidez variam de 0.05 a 0.19 U (79).

A reação corada é qualitativa. Consiste em adicionar a 1 ml de sôro dializado a 38°C, cadaverina e disulfonato índigo. Se o sôro fôr positivo há um descoramento em 12-24 horas.

Na ausência de gravidez a côr muda em 3 dias (78).

ZELLER ainda propõe a formação da amonia no aparelho modificado de BARCROFT e WARBURG como método químico no diagnóstico da gravidez. A amonia difusa no HC1 é determinada colorimètricamente pelo reativo de Nessler. Esta técnica permite determinar 0,1y de diamino-oxidase do sôro (80).

Não encontramos na literatura consultada, referência aos testes propostos por ZELLER e ZELLER e BIRKHÄUSER. Não temos também nenhuma experiência sôbre os mesmos.

Substâncias redutoras da urina.

VISSCHER e BOWMAN em 1934 (71) apresentaram uma técnica química baseada na presença de substâncias redutoras na urina de gravida. Consistia na oxidação da urina com solução de ferricianeto de potássio e água oxigenada em presença do cloridrato de fenil-hidrazina e em banho-maria fervente por 15 minutos. Removido o tubo do banho, a solução era tratada por

1 gota de ácido clorídrico concentrado e um excesso de hidróxido de sódio. Procediam a titulação pelo HCl diluído. O final da reação era dado pela viragem da côr amarelo-esverdeado para o azul da Prussia. Em 317 casos obtiveram uma precisão de 93%.

Friedrich (21), Dodds (13), Dolff (14), Frech (20), Ostádal (54), Dunn e Northway (15), Krieger (44) e Hadler (27) modificaram o teste de Visscher e Bowman conseguindo Friedrich com a sua modificação, 100% de resultados positivos. Porém êste resultado ótimo só foi assinalado por Friedrich.

A urina normal contém muitas substâncias redutoras e Lochle (46) obteve a reação de Visscher e Bowman positiva em urinas de homens e mulheres que continham glicose.

Reunimos no quadro II as percentagens obtidas pelos diversos autores.

QUADRO II

AUTOR	ANO	N.º DE CASOS	RESPOSTAS CERTAS
Visscher-Bowman	1934	317	93%
Friedrich	1936	312	100%
Dolff	1936		94,5%
Dodds	1936	100	90%
Frech	1937		
Ostádal	1937		
Sheeham	1937		60%
Dunn e Northway	1938		84,8%
Krieger	1939		
Hadley	1941	232	

Como se vê pela análise do quadro, o teste de Visscher e Bowman é muito falho e inespecífico.

Eliminação hormonal.

Fator redutor da urina grávida — Gonadotrofinas.

Bowman em 1939 (5) verificou que as preparações das urinas gravídicas continham um fator de redução característico e procurou usar esta propriedade como teste químico no diagnóstico da gravidez. Várias técnicas preconizadas para a preparação das gonadotrofinas foram tentadas. As substâncias redutoras presentes na urina foram isoladas por meio da precipitação fracionada com acetona. Estabeleceu as concentrações relativas dos fatôres de redução pela titulação eletrométrica. Injetando ratas imaturas com o material redutor isolado, obteve o mesmo tipo de reação observado com o hormônio gonadotrófico coriônico estabelecendo assim uma relação entre o fator redutor e êste

hormônio. Uma vez verificado que o fator redutor da urina gravídica tem as mesmas propriedades químicas e biológicas do hormônio gonadotrófico, BOWMAN procurou utiliza-lo como um teste químico para o diagnóstico da gravidez.

A técnica é muito simples. Separado o fator de redução pela precipitação fracionada com acetona, o líquido viscoso mais o resíduo são dissolvidos em água distilada, e titulados pela solução 0,0005N de iodo usando o amido como indicador.

Escolheu dos valores obtidos um número arbitrário significativo, considerando positiva a urina tratada que consumisse um mínimo de 10 ml de iodo 0,0005N.

Em 303 casos BOWMAN obteve uma percentagem de 98,4% de resultados corretos positivos.

Em 1942 modificamos o teste de BOWMAN (74). Em vez de titularmos diretamente o fator redutor contido na água de dissolução, pelo iodo 0,0005N, tamponamos a solução, adicionamos uma quantidade conhecida da solução de iodo 0,0005N e em excesso, e aquecemos em banho-maria 40-50°C, por 10 minutos. Nas urinas gravídicas a redução dá-se quase imediatamente. O iodo não reduzido é titulado por uma solução de tiosulfato de sódio do mesmo título. Consideramos positivas as urinas que fornecem um precipitado capaz de reduzir em 5 minutos 15 ml da solução de iodo 0,0005N.

Estudamos 43 casos sendo 23 de urinas suspeitas e 20 de homens e mulheres normais. Obtivemos 100% de respostas corretas positivas. Os nossos resultados foram controlados biològicamente.

Baseados nas propriedades óxido redutoras dos hormônios gonadotróficos, minuciosamente estudadas por BOWMAN (6), EVANS e colaboradores (18), GURIN (25), GURIN, BACHMAN e WILSON (24) e outros, procurámos estabelecer sôbre base química e quantitativa a eliminação destas substâncias pela urina na gravidez e relacionar os valores obtidos com a unidade biológica. (43).

Experimentamos várias técnicas propostas para a preparação das gonadotrofinas. Verificamos que a adsorção destas pelo Caulim é eletiva e a sua execução simples e econômica.

Os hormônios adsorvidos pelo *caulim* são eluídos por uma solução de soda 0,1N e tratados pelo reagente cúprico de SOMOGYI, e a redução controlada pela titulação com o tiosulfato. O número de ml de tiosulfato 0,0005N gastos é expresso em unidades camondonga. A reação da quantidade de tiosulfato gasto e a unidade biológica, estabelece-se usando quantidades cres-

centes de um mesmo eluato padronizado biològicamente. O número de ml de tiosulfato gastos com a solução que corresponde a 1 U.C. será a constante empregada no cálculo. O fator por nós encontrado foi 5 (5ml de tiosulfato = = 0,0005N 1 U.C.)

A presença dos hormônios gonadotróficos nos eluatos caulim foi comprovada biològicamente.

Em 238 casos obtivemos apenas um resultado falso positivo. Tratava-se de uma urina de mulher em inicio de menopausa.

Os resultados obtidos com a determinação química das substâncias gonadotróficas presentes na urina estão resumidos no quadro III.

QUADRO III

AUTOR	N.º de CASOS	ml de tiosulfato de sódio 0,0005 N gastos								
		GRÁVIDA			NORMAL			HOMEM		
		Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.
Bowman.....	303	50	10	17,2	5	1	2,33	5	1	2,69
Mello.....	43	73,8	17,3	33,62	11,3	3,8		7,9	5,3	5,8

A dosagem química e quantitativa das gonadotrofinas no início da gravide, oferece resultados seguros logo na primeira semana. Como êstes hormônios aumentam consideràvelmente nos 2 primeiros meses de gravidez, a sua eliminação mesmo nos casos em que há distúrbios hepáticos ou renais é acima dos valores normais, permitindo assim fazer um diagnóstico seguro.

Os casos em que podem falsear os resultados são os mesmos que invalidam os testes biológicos: amenorréia por insuficiência estrogênica, menopausa, ou mola.

Foliculinuria.

Kober em 1931 (42), foi o primeiro autor que propoz um teste químico, para dosagens quantitativas dos estrogênios na urina, aproveitando a reação de Liebermann-Burchard para os estéroes. Porém a técnica de Kober só é quantitativa para a estrona ou alfa-cetohidroxiestrona pura. A reação quantitativa dêstes hormônios é baseada no desenvolvimento de côr verde-vermelho fluorescente qundo tratados pelo acido fenolsulfônico, comparando-se a côr com um padrão de vermelho cresol no tintômetro Lovibond.

Cuboni em 1934 (11) empregou a técnica de Kober para foliculina como reação diagnóstica da gravidez em egua. Sala (61) repetiu-a no ano seguinte ligeiramente modificada para urina de egua e mulher grávida — hidrolizava a quente 5 ml de urina com 1 ml de HCl e extraia os estrogênios pelo benzol. Em 19 casos de mulheres entre 2 e 9 meses de gravidez obteve 15 positivos, 1 negativo e 2 duvidosos. Em 16 casos nomais obteve 7 positivos, 8 negativos e 1 duvidoso, concluindo assim ser o diagnóstico sem valor na espécie humana enquanto na egua obteve 100% de resultados certos positivos.

Cohen e Marrian (9) modificaram o método de Kober tornando-o quantitativo para os estrogênios da urina gravídica. A intensidade da côr medida num tintômetro de Lovibond e os valores lidos na curva de calibração obtida com hormônio puro, dão o teor de entrogênios eliminados.

Schmulowitz e Willie (63) em vez do ácido fenolsulfônico empregaram a para-nitroanilina diazotada proposta por Harington e Scheipbach.

Os estrogênios extraídos da urina suspeita pelo éter, eram lavados com solução de carbonato de sódio e o éter removido por distilação. Ao resíduo dissolvido em álcool, adicionavam então 1 ml da solução de para-nitro-anilina diazotada e 15 ml de uma solução de carbonato de sódio a 20% provocando assim o desenvolvimento de uma côr vermelha escura na camada alcoólica. A intensidade era comparada ao colorímetro de uma solução padrão de cloreto férrico a 33%. Estabeleceram um valor arbitrário para expressar os resultados, que denominaram (*ferric chloride* Number). Os números acima de 25 F.C.N. eram considerados positivos e duvidosos entre 15 e 25.

Fizeram determinações em 89 urinas de 56 mulheres sendo 38 gravidas. Obtiveram nas gravidas apenas um caso duvidoso enquanto nas normais houve 6 casos falsos positivos. Verificaram também que na toxemia gravídica há uma diminuição considerável na excreção dos estrogênios, (19) confirmado assim os trabalhos de Smith e Smith (66).

Em 1937, Savage e Willie (62) aplicaram a dosagem dos estrogênios não só como reação para o diagnóstico precoce, mas nos casos mais adiantados, no prognóstico das toxemias nefríticas ou pre-eclanticas, onde a estronúria se apresenta muito diminuída.

Vários autores trabalharam o método de Schmulovitz e Willie, abandonando-o porém devido a alta percentagem do êrro que foi encontrado (+ 30%).

Assim, a determinação química dos estrogênios tem sido mais empregada para o diagnóstico dos distúrbios na gravidez do que como teste indicativo dêste estado.

Progesteronúria.

A progesterona é encontrada na urina sob a forma de glicuronato de pregnandiol sódico quando o corpo lúteo ou a placenta estão funcionalmente ativas.

Jones e Weil (1938), (33) removendo os corpos lúteos dos ovários de mulheres grávidas com 58 dias de gravidez determinaram diàriamente por um período de 3 meses, o glicoronato de pregnanidiol sódico eliminado pela urina. Com está técnica encontraram valores de 15,08. a 26,4 mg por 24 horas. Em face dêstes resultados sugeriram a hipótese que a progesterona na gravidez é produzida pela placanta desde o primeiro mês e o seu desaparecimento da urina 24 horas após o parto confirma esta hipótese.

Por outro lado Hamblen, Ashley e Baptist (1939), (30) estudaram minuciosamente o metabolismo da progesterona, determinando-a como glicoronato de pregnanediol sódico pela técnica gravimétrica. Concluíram que o aparecimento do pregnanediol na urina depende da formação da progesterona nos ovários pelos corpos lúteos post- ovulatórios, da transformação da progesterona em pregnanediol pelo endométrio, da conjugação do pregnanediol com o ácido glicurônico no fígado e da sua subseqüente eliminação pelos rins.

A alteração de um dêstes órgãos reflete-se no metabolismo e excreção da progesterona.

Venning e Browne (1936) (68) (1937) (69) (7), já haviam verificado que o pregnanediol é um produto do metabolismo da progesterona, normalmente presente na urina durante a fase lútea do ciclo menstrual normal e durante tôda a gravidez, desaparecendo logo após o parto.

A eliminação total por ciclo variou de 3 a 54 mg em 9 ciclos nomais, segundo aquêles autores.

Ainda em 1937, Browne, Henry e Venning (70) encontraram valores de 4 a 10 mg de pregnanediol por 24 horas, em mulheres com 60 dias de gravidez. Acompanhando êstes casos determinaram o máximo de eliminação do oitavo mês que atingiu, 75-80 mg por 24 horas.

Weil em 1938 (73) observou que nos casos de toxemia gravídica e eclampsia havia uma diminuição acentuada do pregnanediol na urina, fato êste já assinalado por Venning e Browne.

Hain e Robertson em 1939 (29) observando que o glicuronato de pregnanediol sódico só é eliminado durante a segunda fase do ciclo menstrual normal sugeriram a possibilidade de usar a sua determinação para o diagnóstico

precoce da gravidez. Apresentam apenas um caso em que foram feitas dosagens durante dois ciclos e a técnica empregada foi a de BROWNE e VENNING.

A excreção no primeiro ciclo do 10.º ao 24.º dia foi de 44,5 mg e no segundo ciclo, no mesmo período a eliminação foi de 114 mg.

O aumento verificado de um ciclo para outro levou-os a suspeitar de gravidez. O teste de ASCHHEIM e ZONDEK foi negativo no 28.º dia do ciclo tornando-se positivo no 33.º dia.

Em vista dêste resultado aconselham o teste para o diagnóstico precoce. Porém, é difícil sem conhecer a eliminação do ciclo anterior, exclusão feita aos outros fatôres, concluir se há ou não gravidez.

COPE, em 1940 (10), estudou detalhadamente a significação da presença do pregnanediol na urina de mais de 100 mulheres. Sugere como base diagnóstica, que nos casos de amenorréia em que se verifica a eliminação de pregnanediol há gravidez, e que a ausência desta significa um diagnóstico negativo.

BUXTON, neste mesmo ano (8), adotou também a determinação gravimétrica do glicuronato de pregnanediol para o diagnóstico da gravidez. Conclui porém que, a pesar da excreção do, pregnanediol desde o primeiro mês da gravidez ser maior que durante a fase lútea do ciclo menstrual normal, a sua dosagem não serve de base diagnóstica, uma vez que o seu metabolismo e excreção não dependem apenas do útero e dos ovários.

Recentemente, GUTERMAN (26) propôs um novo teste para o diagnóstico da gravidez empregando, em vez da técnica gravimétrica já clássica para o pregnanediol, uma reação corada.

O método de extração é semelhante ao de BROWNE e VENNING. Feita a hidrólise ácida da urina suspeita o pregnanediol é extraído com tolueno, purificado, precipitado e isolado.. O resíduo é tratado com ácido sulfúrico. Se houver um desenvolvimento de côr amarelo-alaranjada, o teste é considerado positivo. Num total de 103 casos, sendo 39 de gravidez, houve apenas 5 resultados falsos assim distribuídos, 3 falsos negativos em casos de gravidez, 1 falso positivo num caso de amenorréia, um falso positivo num caso de cisto luteínico. A sensibilidade do método permite um diagnóstico 6 dias após o não aparecimento das regras.

O autor aconselha o emprêgo do método acima não só para o diagnóstico de gravidez como para orientação terapêutica nos casos de ameaça de abôrto.

Relativamente, poucos autores têm usado a determinação gravimétrica ou colorimétrica do pregnanediol para o diagnóstico da gravidez.

Entretanto, a sua excreção durante a gestação tem sido largamente estudada. Assim, BACHMAN e Col. (4), HAIN (28), HAMBLEN, CUYLER e BAPTIST (31) e outros têm procurado determinar a sua taxa de excreção e a significação na ameaça do abôrto, no abôrto imcompleto, na morte do feto, desordens hipertensivas, toxemias e preeclampsia, como no diabetes, hidramnios, nefrites crônicas, etc.

Os resultados encontrados pelos diversos autores nesses casos demonstram que a presença de grandes ou pequenas quantidades de glicuronato de pregnanediol sódico na urina dessas pacientes, só tem significação para diagnóstico ou terapêutica quando são feitas varias determinações.

Como o presente trabalho é sôbre técnicas químicas para o diagnóstico precoce da gravidez, limitamo-nos a citar apenas os casos gravídicos em que a determinação quantitativa da progesterona pode interessar.

Como não temos experiências nossas sôbre o valor da excreção do pregnanediol no diagnóstico precoce da gravidez, damos a conclusão de COPE seguida da de HAIN e ROBERTSON: "A ausência de excreção do glicuronato de pregnanediol sódico pela urina tem o valor de um diagnóstico negativo, enquanto pequenas quantidades podem significar gravidez ou o prelúdio do aparecimento do fluxo menstrual (COPE)" (10).

Sòmente quando se conhece a excreção "do glicuronato de pregnanediol" sódico do ciclo anterior, pode-se ter um diagnóstico precoce seguro (HAIN e ROBERTSON).

Conclusões.

As determinações químicas, quer dos hormônios, quer das substâncias provenientes do metabolismo normal da gravidez, foram comentadas à medida que foram descritas. Daquelas que temos experiência recomendamos a dosagem química dos hormônios gonadotróficos por ser, *a*) especifica; *b*) porque a sua eliminação já está aumentada depois da primeiro semana da gravidez; *c*) porque mesmo quando há insuficiência hepática ainda êstes hormônios são eliminados em valores acima do normal; *d*) porque a técnica é de execução fácil, e rápida.

BIBLIOGRAFIA

1) — AHLMARK (A)

1944. Significance of blood histaminase in pregnancy Lancet, 247,6317, 406-07.

2) — ARMSTRONG (A. R.) e WALKER (E).

1932. The bromine reaction of pregnancy urine. Bioch. Jour. 26, 143-46.

3) — Bickel (A)

1936. Disoxydative Carbonuric und die Histidinausscheidung in der Schwangerschaft unter dem Einfluss verschiedenartiger Ernährung Bemerkungen zu dem Aufsatz von R. Kapeller-Adler und Walter Schiller.
Klin. Wochnshr. 15, 94-97.

4) — Bachman (C) Leekley (D) Hirschmann (H.)

1941. Urinary excretion of pregnanediol glucuronidate in the hypertensive disorders of pregnancy.
Jour. Clin. Endocrinol 1, 3, 206-210.

5) — Bowman (D. E.)

1939. The use of a reducing factor of pregnancy urine in the diagnosis of pregnancy.
J. Lab. Clin. Med. 24, 1072-1076.

6) — Bowman (D. E.)

1941. Some of the oxidation reduction properties of the chorionic gonadotropic hormone.
J. Biol. Chem., 137, (1), 293-302.

7) — Browne (J. S. C.) Herry (J. S.), Venning (E. M.)

1937. The corpus luteum hormone in pregnancy Jour. Clin. Invest 16, 678.

8) — Buxton (C. L.)

1940. Pregnanediol determination as an aid in clinical diagnosis.
Am. Jour. Obst. Gynec 40, 2, 202-11.

9 — Cohen (S. L.), Marrian (G. F.)

1934. The application of the Kober test to the quantitative estimation of oestrine and oestriol in human pregnancy urine.
Bioch. Jour., 28, 1603.

10 — Cope (C. L.)

1940. The diagnostic value of pregnandiol excretion in pregnancy disorders.
Brit. M. J. 2, 545-49.

11) — Cuboni (E)

1934. Uber eine einfache und schnelle chemischhormonale Schwangeerschaftsreakkion.
Klin. Wochnschr., 13, (2), 843-847.

12) — Dodds (G. H.)

1930. Value of the bromine test for diagnosis of pregnancy.
Brit. Med. Jour. 1, 948-49.

13) — Dodds (G. H.)

1936. The Visscher — Bowman test for pregnancy.
Brit. Med. Jour. 2, 224-25.

14) — Dolff (C)

1936. Bericht uber einige Nachuntersuchunger der chemischen Schwangerchafts-reaktion von Visscher und Bowman.
Zentralbl. f. Gynak, 59, 2901-4

15) — Dunn (R. D.) e Northway (F. J)

1938. Results with the Visscher-Bowman pregnancy test.
Am. Jour. Obst. Gyn. 35, 2, 298-300.

16) — Edlbacher (S) e Neher (M)

1934. Zur Kenntnis des intermediaren Stroffwechsels des Histidins.
Hoppe, Zeits. Sevler's f. Physiol. Chem. 224, 261-72.

17) — Effkemann (G.), Werle (E)

1940. The significance of the histamine metabolism in the pregnant and nonpregnant organism.
Arch. f. Gynäk., 170, 173.

18) — Evans (H. M.) Fraenkel-Conrat (H.) Simjson (M. E) e Li (Ch. H)

1939. Caracterization of gonadotropic hormones of the hypophysis by their sugar and glucosamine content. Science, 89, 249-50.

19) — Ferrari (R. A.) e Francis (D. J.)

1935. Experiencias con una nueva reación quimica para el diagnostico del embarazo. Semana Medica B A., 2, 555-56.

20) — Frech (H. C. Jr.)

1937. Modification of Visscher-Bowman pregnancy test, with report on 513 observations. Am. Jour. Obst. Gynec. 33, 854-57.

21) — Friedrich (D)

1936. Nachpruenfung und Vereinfachung der Schwangerschaftsreaktion nach Visscher und Bowman.
Monat. f. G. und Gynäk, 103, 211-13.

22) — Gertler (H)

1936. Untersuchungen über das Vorkemmen von Histidin im menschlichen Harn.
Endokrinol. 17, 1/2, 45-47.

23) — Goodfriend (M. J) e Daniel (M)

1943. The histidine test (Kapeller-Adler) in the diagnosis of pregnancy.
Am. Jour. Obst. Gynec. 45, 1, 140-43.

24) — Gurin (S), Bachman (C) e Wilson (D. W)

1939. The nature of the carbohydrate in the gonadotropic substance of pregnancy urine.
Science, 89, 62-63.

25) — Gurin (S)

1942. Carbohydrates of gonadotropic hormones.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 49, (1), 48-50.

26) Guterman (H. S.)

1944. A human pregnancy test based upon a color reaction of pregnanediol in the urine.
Jour. Clin. Endocrinol, 4, 6, 262-67.

27) — Hadley (H. G.)

1941. A note on the Visscher-Bowman Chemical test for pregnancy.
J. Lab. Clin. Med. 26, 8, 1374-75.

28) — Hain (A. M)

1942. Further observation on the role of progesterone (pregnanediol) and oestrogen in pregnancy.
Jour. Endocrinol, 3, 1, 10-63.

29) — Hain (A. M.) e Robertson (E. M)

1939. Estimation of luteal activity and early diagnosis of pregnancy.
Lancet. 1, 6041, 1324-25.

30) — Hamblen (E. C.), Ashley (C), Baptist (M)

1939. Sodium pregnanediol Glucuronide. The significance of its excretion in the urine. Endocrinol, 24, 1 1/12.

31) — Hamblen (E. C.) Cuyler (W. K), Baptist (M)

1942. Pregnanediol determinations in gynecology and obstetrics.
Am. Jour. Obst. Gynec. 44, 3, 442-54.

32) — Hannan (J. H.)

1930. The detection of the presence of the hormone of anterior pituitary body in the urine as an aid to the diagnosis of pregnancy.
Proc. Roy. Soc. Med., 23, 1, 634-39.

33) — Jones (H. W.) Weil (P. G.)

1938. The corpus luteum hormone in early pregnancy. Report of a case in which there was early removal of the corpus luteum.
Jour. Am. Med. Assn. 111, 6, 519-21.

34) — Kapeller-Adler (R)

1933. Über eine Methode zur quatitativen Histidinbestimmung und über deren Anwendbarkeit zur Untersuchung von biologischen Flüssigkeiten, insbesondere von Gravidenharnem.
Bioch. Zeitschr. 264, 131-141.

35) — Kapeller-Adler (R)

1934. Über eine neue chemische Schwangerschaftsreaktion.
Klin. Woch. 13, 1, 21-22.

36) — KAPELLER-ADLER (R) e HERMANN (H)

1934. Zur frage der Histidinurie bei der gravidität.
Klin. Wochnscher. 13, 2, 34, 1220.

37) — KAPELLER-ADLER (R) SCHILLER (W)

1935. Über die Histidinausscheidung in der Schwangerschaft unter dem Einfluss verschiedenartiger Ernährung.
Klin. Woch. 14, 50, 1790-92.

38) — KAPELLER-ADLER (R) e HERMANN (H)

1936. Zur kenntnis der Histidinurie bei Graviden..
Klin. Wochnschr. 15, 21, 27, 977.

39) — KAPELLER-ADLER (R) e BOXER (G)

1937. Über den Einfluss gonadotroper Hormone auf den Histidinabbau in der Leben.
Bioch. Zeit. 293, 3/4, 207-218.

40) — KAPELLER-ADLER (R)

1940. Histidine metabolism in toxaemia of pregnancy. Isolation of histamine from the urine of patients with toxaemia of pregnancy.
Biochm. Jour. 35, 1-2, 213-18.

41) — KAPELLER-ADLER (R)

1941. Histidine metabolism in normal and toxaemic pregnancy. Excretion of histidine in normal pregnancy urine and in urine of patients with toxaemia of pregnancy.
Jour. Obst. Gynaec. Brit. Emp. 48, 141-54.

42) — KOBER (S)

1931. Eine kolorimetrische Bestimmung des Brunsthormons (Menformon)
Bioch. Zeitschr. 239, 209.

43) — KRAUS (S) e KOENIGSTEIN (R)

1941. Experiences with the pregnancy test of Kapeller-Adler histidinuria in pregnant women. Chinese Med. Jour. 59, 129.

44) — KRIEGER (V)

1936. Histidine in urine as indication of pregnancy.
Med. Jour. Australia, 1, 559-602.

45) — LANGLEY (W. D)

1941. Urinary histidine. Determination of histidine in normal and in pregnancy urines.
J. Biol. Chem. 137, 255-265.

46) — LOEHLE (L)

1936. Citação de Weisman. Jour. Obst. Gynec. 35, 2, 358. 1938.

47) — Mello (M. I)

1942. Modificação do teste de Bowman para o diagnóstico da gravidez. Rev. Brasil. Biol. 2, 343-348.

48) — Mello (M. I)

1943. Novo método para o diagnóstico da gravidez baseado na determinação química do hormonio gonadotrópico da urina. Rev. Brasil. Biol., 3, (1), 119-125.

49) — Mello (M. I)

1944. Estudos e revisão dos principais testes para o diagnóstico precoce da gravidez. I. Testes Biologicos. Mem. Inst. Cruz. 40, 3, 355-374.

50) — Neuhardt (C. W.)

1938. Importance of correlating especific gravity of urine with intensity of color change in histidine pregnancy test. Yale Jour. Biol. Med. 10, 261-69 (Abstract).

51) — Neuweiler (W) Grim (W)

1940. Histidinausscheidung im Harn. Klin. Wochnschr. 19, 155-57.

52) — Niendorf (F)

1940. Histidinausscheidung im normalen und pathologischen Harn. Klin. Wochnschr. 19, 937-40.

53) — Ohligmacher (A)

1934. Schwangerschaftsreaktion nach Kapeller-Adler. Klin. Wochnschr. 13, 2, 30, 1078-79.

54) — Östádal (B)

1937. Chemische Schwangerschaftsreaktion nach Visscher-Bowman. Zentralbl für gynak., 61, 5, 266-268.

55) — Plotz (E. J.)

1941. Über die Histidinausscheidung im Harn von Schwangeren. Zentralbl. f. Gynäk 65, 309-15. (abstract).

56) — Racker (E)

1940. Histidine detection and estimation in urine. Bioch. Jour. 34, 1, 89-96.

57) — Racker (E)

1941. Histidine in Urine. Biochem. Jour. 35, 5-6, 667-71.

58) — Renton (H)

1935. New pregnancy test, demonstrating presence of histidine in urine of pregnant woman. South Afr. Med. Jour. 9, 441-43.

59 — Robertson (E. M.)

1939. Citado em Hain e Robertson (29).

60) — Sakaguchi (R)

1940. Über die Histidinausscheidung im Harn.
Jour. Bioch. 31, 289-302.

61) — Sala (S. L.)

1935. La hormona folicular y el diagnostico del embarazo en la mujer y en la yegua. Nueva reacción quimiohormonal.
Rev. Sud. Am. Endocr. Immunol. Quimiol. 17, 5, 325-29.

62) — Savage (J) e Willie (H)

1937. A chemical test for pregnancy applied to the determination of estrin in the urine of normal and toxemic pacients in the last trimester of pregnancy.
Am. Jour. Obst. Gynec. 33, 771-83.

63) — Schmulovitz (M. J.) e Willie (H. B.)

1935. The chemical diagnosis of pregnancy by detection of estrin in urine.
Jour. Lab. Clin. Med. 21, 2, 210-16.

64) — Seidman (T. R.)

1935. The determination of urinary histidins as a chemical test for pregnancy.
Am. Jour. Obst. Gynec. 29, 3, 451-53.

65) — Siddall (A), Hu (S) Ha (H) e Wong (W),

1931. Bromine water test for pregnancy. China Med. Jour. 45, 646-48.

66) — Smith (G. V. S.) e Smith (O. W.)

1934. Excessive Gonad-Stimulating Hormone and Subnormal Amounts of Oestrin in the Toxemias of Late Pregnancy.
Am. J. Physiol. 107, 128.

67) — Stern (K)

1935. Erfahrungen mit der chemischen Schwangerschaftsdiagnose nach Kapeller-Adler (Histidinnachweis im Harn).
Zentralbl. f. Gynäk. 59, 39, 2305-2308.

68) — Venning (E. M.), Browne (J. S.)

1936. Isolation of a water-soluble pregnandiol complex from human pregnancy urine.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 34, 5, 792-93.

69) — Venning (E. M.)

1937. A gracimetric method for the determination of pregnanediol sodium glucuronidate.
Jour. Bioch. 619, 473.

70 — VENNING (E. M.) e BROWNE (J. S. L.)

1937. The urinary excretion of sodium pregnanediol Glucuronidate in the human menstrual cycle. Endocrinol 21. 711.

71) — VISSCHER (J. P) e BOWMAN (D. E)

1934. Chemical determination of pregnancy. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 31, 460.

72) — VOGE (C)

1929. A simple chemical test for pregnancy. Brit. Med. Jour. 1, 929-30.

73) — WEIL (P. G.)

1938. The excretion of pregnandiol in the toxemias of pregnancy. Science., 87, 2247, 72-73.

74) — WEISS (M)

1934. Über den Schwangerschaftsnachweis mittels der Histidinreaktion im Harm. Klin. Wochnschr. 13, 44, 1579-80.

75) — WERLE (E) e KRAUTZUM (I)

1938. Über die Bildung von Histamin aus Histidin durch tierische Gewebe. Bioch. Zeitschr. 296, 5-6 315-324.

76) — WERLE (E), EFFKEMANN (G)

1940. The destruction of histamine by the blood of pregnant women. Arch. f. Gynäk. 170, 82.

77) — YOUNG (A)

1933. Five Hundred and Nineteen Voge Bromine Tests of Urine for Pregnancy Jour. Lab. Clin. Med. 19, 153-155.

78) — ZELLER (E. A) e BIRKHÄUSER (H)

1940. Chemical test for pregnancy. Schwiz. med. Wochschr. 70, 975 (Abstract)

79) — ZELLER (G. A)

1940. A simple color reaction for pregnancy detection. Naturwissensch, 28, 712 (Abstract).

80 — ZELLER (E. A)

1940. Methodics of the chemical determination of pregnancy. Microdetermination of amnonia. Helvet. Chim. Acta, 23, 1509-12.

O eletrocardiograma na doença de Chagas experimental (*)

por

Bernardo Figueiredo Magalhães e S. Americano Freire

(Com 12 figuras no texto)

I

Introdução

A tripanosomíase americana, no polimorfismo clínico em que se pode apresentar, é sempre um capítulo aberto a estudos novos, por sua profundeza, sua originalidade ou sua atualização. Não foi outro nosso intuito: reestudar o eletrocardiograma na doença de Chagas à luz dos conhecimentos que, dia a dia, nos chegam, mercê de experiências do laboratório ou da clínica.

O estudo das alterações eletrocardiográficas da forma humana da moléstia de Chagas, tem merecido atenção de inúmeros autores. Prova disto são os trabalhos hoje clássicos, do próprio CARLOS CHAGAS (4), de C. CHAGAS & VILELA (3), de E. CHAGAS (5, 6, 7), de VILELA (29) e, mais recentemente a contribuição de MAZZA & colaboradores (9 a 36). Afora êstes, ainda encontramos, esporàdicamente, referências a eletrocardiogramas em vários trabalhos em que êste exame entra como simples complemento (1, 2, 8, 27) não constituindo a finalidade mesmo do estudo.

No entanto, o mesmo não se pode dizer sôbre a moléstia experimental. Em tôda a bibliografia consultada, só encontramos referências a um trabalho sôbre o ecg de cães chagásicos (Alberto C. Taquini. "El eletrocardiograma en la enfermedad de Chagas experimental." Rev. Arq. de Card., 8:115-121, 1942), em que não havia porém, comprovante histopatológico. Esta falta de estudos eletrocardiográficos experimentais causa tanto mais extranheza quanto se sabe que os cães novos fàcilmente se infectam, reproduzindo no ponto de vista cardíaco, a moléstia humana em fase aguda.

(*) Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz. Divisão de Estudos de Endemias.
Apresentado à Sociedade de Biologia de Minas Gerais em Sessão de 28 de agôsto de 1943.

* Recebido para publicação a 8 de fevereiro de 1945 e dada à publicidade em fevereiro de 1945.

Sem dúvida, dispondo-se do material tão farto e de tão fácil manejo, seria de se desejar que, neste sentido, se fizessem pesquisas mais cuidadosas. Delas, estamos convictos, muito podemos sperar para um melhor conhecimento da fisiopatologia cardíaca dos chagásicos.

II

Material. Método de estudo.

O *Schizotrypanum cruzi* que empregamos foi retirado das fezes de um triatoma colhido por um de nós, nas proximidades da cidade de Bambuí, Minas Gerais.

Cães jovens, com idade de 15-30 dias, foram incculados por via peritoneal. O exame a fresco só se mostrou positivo depois de cêrca de 25 dias de inoculação. De um total de 20 inoculados, perdemos 11, antes que o sangue apresentasse *S. cruzi*. Alguns com meningite, não sendo encontrado o parasito no líquido céfalo-raqueano e outros com "Staupe". Dos 9 que acompanhamos, 5 (101, 102, 103, 106, 107) morreram de 13 a 20 dias depois que o exame de sangue foi positivo; 4 passaram à fase crônica da moléstia, 2 dos quais foram posteriormente sacrificados e os outros 2 continuam no laboratório.

De todos êstes animais foram tomados eletrocardiogramas antes da inoculação e, duas, três e mais vezes, depois que o exame a fresco do sangue revelou a presença do *S. cruzi*.

Dos cães mortos foram retirados fragmentos do coração, para o exame histopatológico, os quais, depois de fixados em líquido de Bouin, foram cortados e corados pela hematoxilina eosina.

Cão 101

3-IX-1942

Ritmo do comando sinusal, regular, com freqüência de 250 batimentos por minuto Desvio do eixo elétrico para a direita. Onda P e tempo de condução aurículo ventricular normal. A oscilação QRS e a onda T são normais em forma, sentido, duração e amplitude.

Junção RS-T, isoelétrica. QT = 0"16.

Ecg normal.

17-IX-1942

Não se observa onda P. Arritmia acentuada, com freqüência de mais ou menos 136 batimentos por minuto. A oscilação QRS sem nada digno de nota. T_2 e T_3 apresentam-se ponteagudos.

Rs-T_2 e RS-T_3 deprimidos. QT = 0"28.

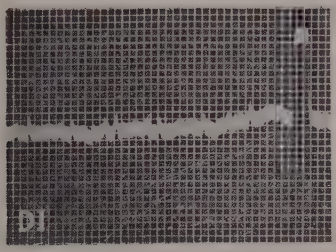
Conclusões :

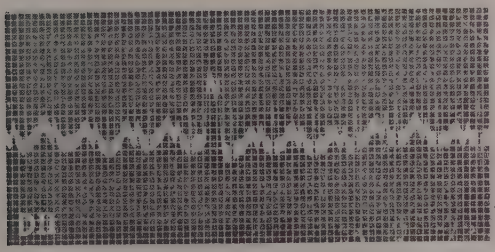
Fibrilação auricular. Comprometimento do miocárdio ventricular.

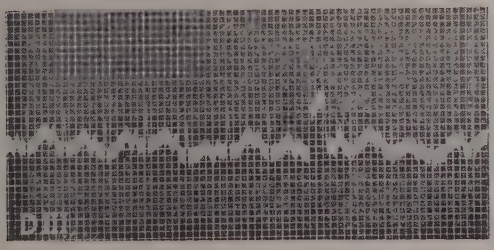
Exame histopatológico do Miocárdio:

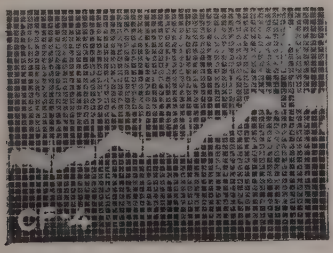
Miocardite difusa. Pseudocistos de leishmania.

CÃO - 101 3·IX·1942

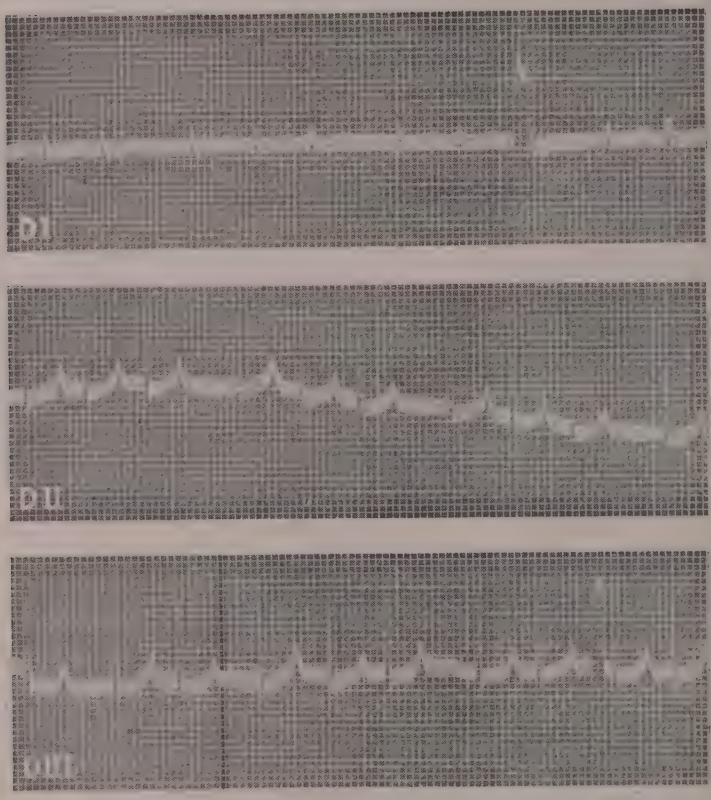




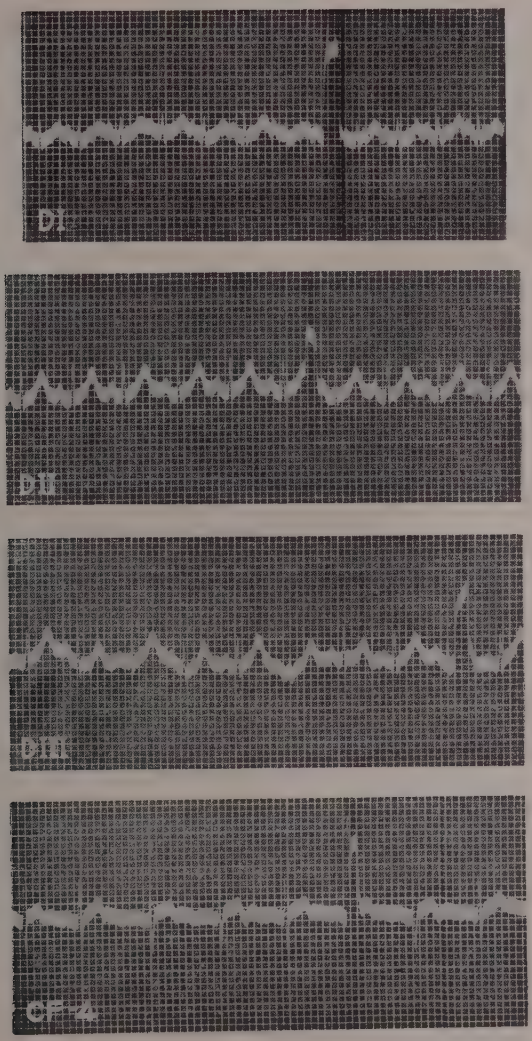




CÃO - 101 17·IX·1942



CÃO - 102 3·IX·1942



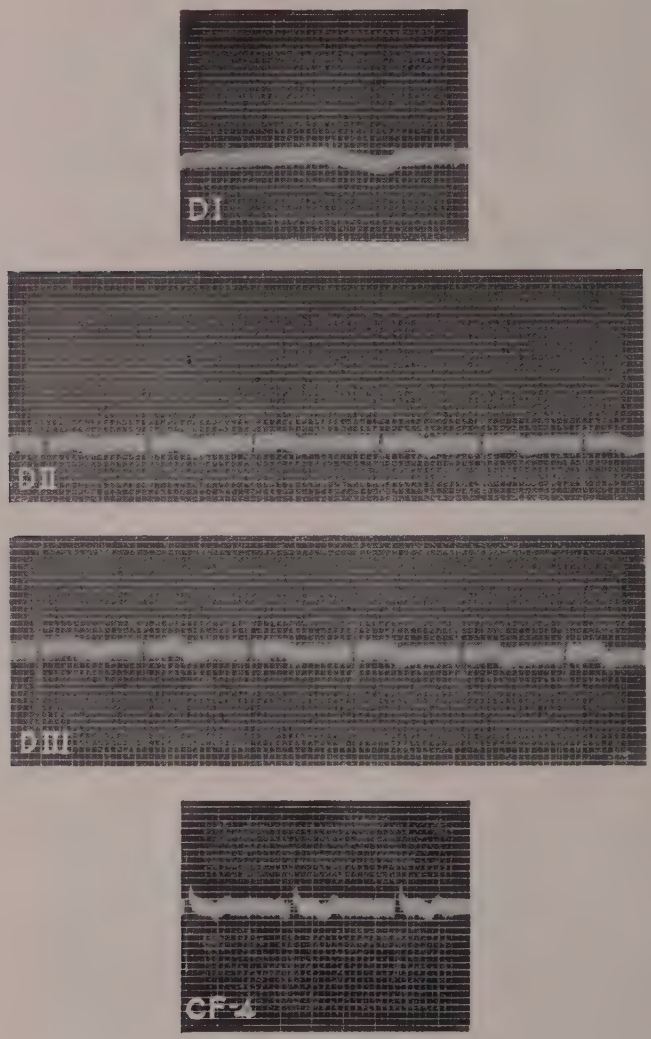
Cão 102

3-IX-1942

Ritmo de comando sinusal, regular, com freqüência de 200 batimentos por minuto. Eixo elétrico desviado para a direita. Onda P e tempo de condução aurículo ventricular normal. Oscilação QRS e onda T, normais em forma, sentido, duração e amplitude. Junção RS-T, isoelétrica. QT = 0''16.

Ecg normal.

CÃO - 102 18·IX·1942

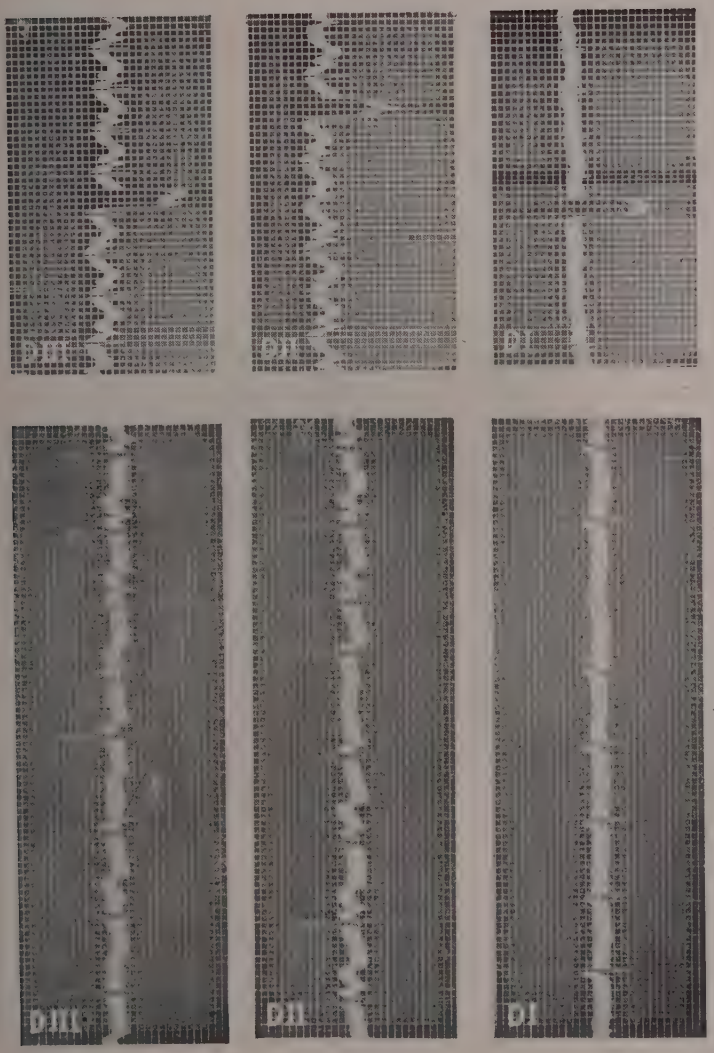


18-IX-1942

Não se observa onda P. Ritmo regular, com freqüência de 90 batimentos por minuto. T difásico. QT = 0''32.

Conclusões: Ritmo nodal. Comprometimento do miocárdio ventricular. *Exame histopatológico do Miocárdio*: Miocardite difusa pouco intensa. Raras formas do parasito em leishmania.

CÃO - 103



Cão 103
3-IX-1942

Ritmo de comando sinusal, regular, com freqüência de 220 batimentos por minuto. Eixo elétrico desviado para a direita. Não se observa qualquer modificação de forma nas ondas P. QRS e T. Junção RS-T, isoelétrica. QT = 0''16. Sistema de condução integro.

Ecg normal.

18-IX-1942

Ritmo de comando sinusal. Extrasistole supra ventricular (4.º complexo de DII). Freqüência de 136 batimentos por minuto. Oscilação QRS ampla, nas de duração normal. Junção RS-T, isoelétrica. T_1 achatado, T_2 e T_3 difásicos. QT = 0''28.

Conclusões: Etrasístole auricular. Comprometimento do miocárdio ventricular. *Exame histopatológico do Miocárdio*: Miocardite difusa pouco intensa e raras formas de leishmania.

Cão 106

3-IX-1942

Ritmo de comando sinusal, regular com freqüência de 250 batimentos por minuto. Eixo elétrico desviado para a direita. Onda P, e tempo de condução aurículo ventricular, normal. A oscilação QRS nada apresenta de anormal. Junção RS-T, isoelétrica. QT = 0"16.

Ecg normal.

17-IX-1942

Freqüência de 176 batimentos por minuto. Nas derivações dos membros a onda P está sepultada em T, o que é evidenciado em CF_4, em que ambas podem ser distinguidas. Nesta última derivação T ora é nitidamente negativo, ora simplesmente achatado.

Conclusão:

Comprometimento do miocárdio ventricular.

18-IX-1942

Ritmo sinusal, regular, com freqüência de 111 batimentos por minuto. Observa-se em DII e III, P bifido. T_2 e T_3 são ponteados. $RS\text{-}T_2$ e $RS\text{-}T_3$ deprimidos. Em CF_4, T apresenta-se entalhado. QT = 0"34.

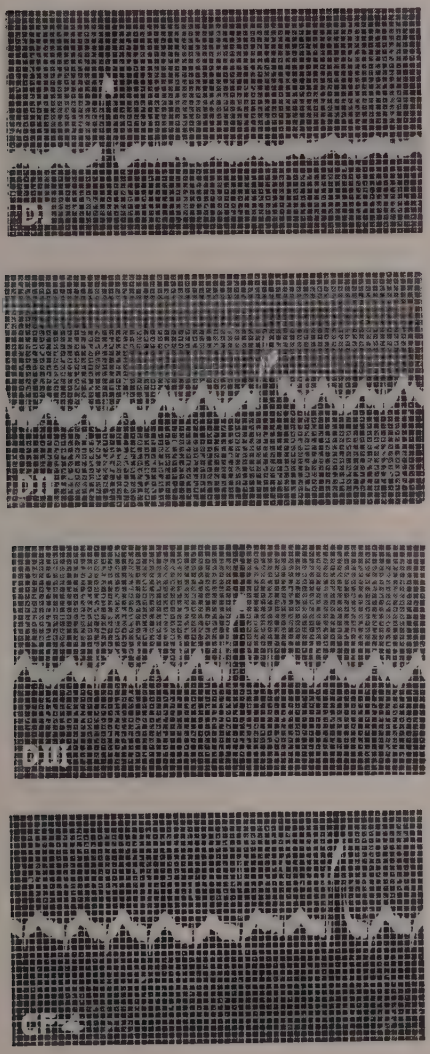
Conclusões:

Comprometimento do miocárdio auricular e ventricular.

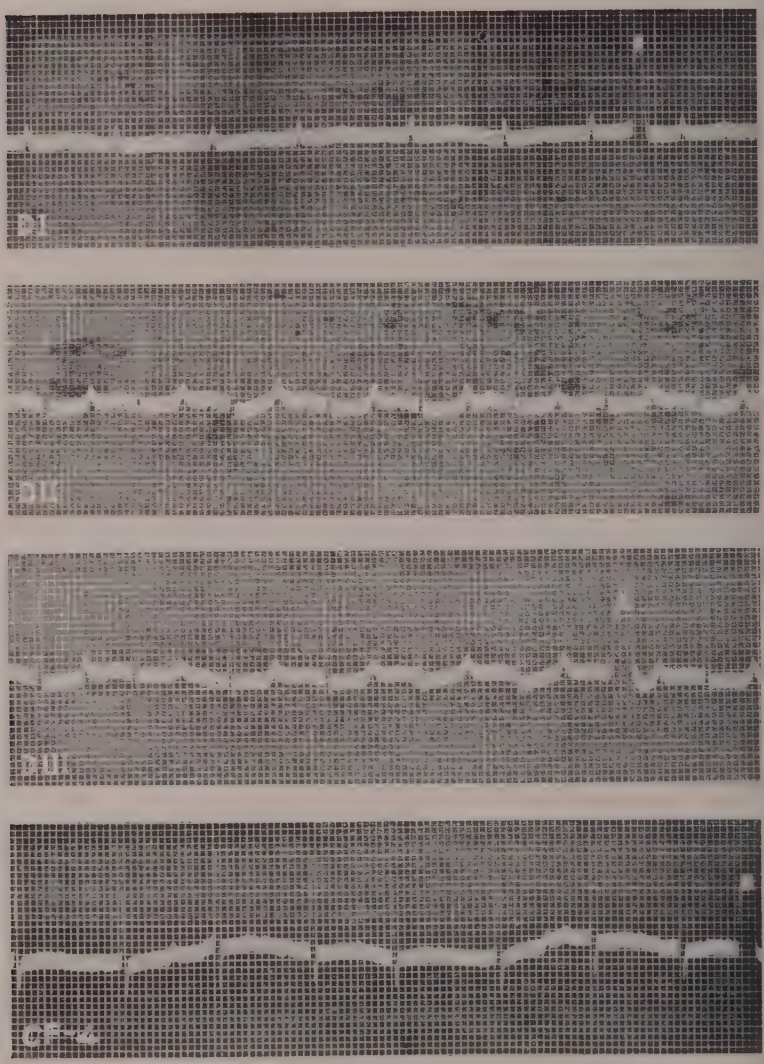
Exame histopatológico do Miocárdio:

Miocardite. Raros pseudo-cistos de leishmanias.

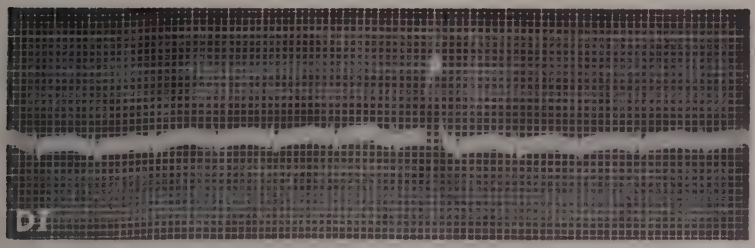
CÃO - 106 3·IX·1942

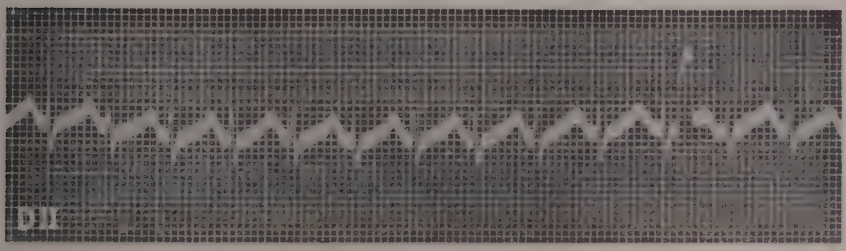


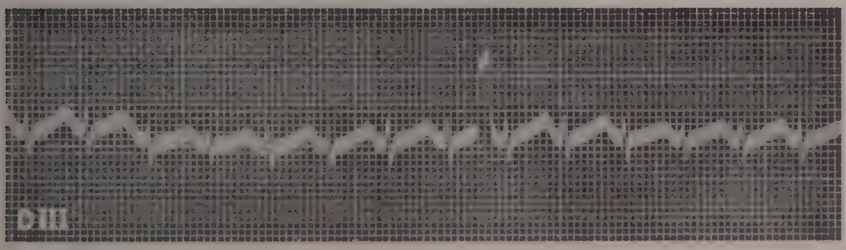
CÃO -106 18·IX·1942

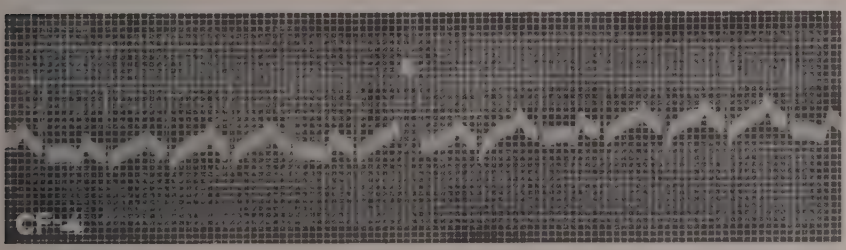


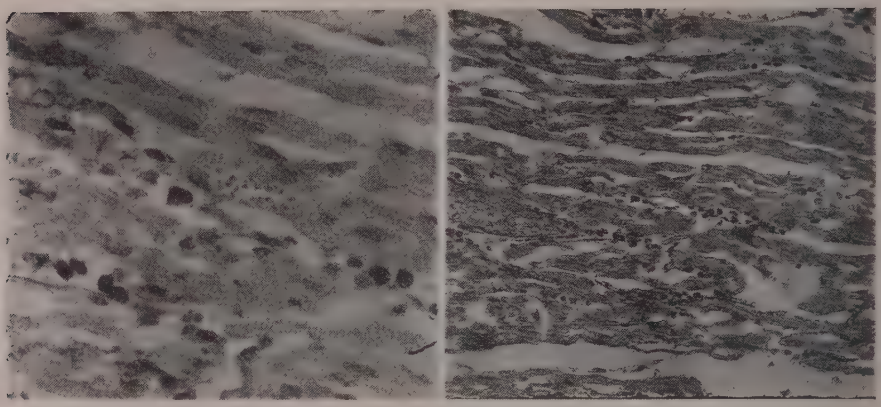
CÃO -106 17-IX-1942











Moléstia de Chagas experimental. Cão 106. Microfotografias do coração

Cão 107

3-IX-1942

Ritmo de comando sinusal, regular, com freqüência de 250 batimentos por minuto. Eixo elétrico desviado para a direita. Onda P e tempo de condução aurículo ventricular normais. A oscilação QRS e a onda T nada apresentam de anormal em forma, sentido, duração e amplitude. Junção RS-T, isoelétrica. QT = 0"16.

Ecg normal.

18-IX-1942

Em DII notamos, ao lado da acentuada arritmia sinusal, uma extrasístole, possìvelmente ventricular. Não se observa a onda P. Freqüência de 166 b.p.m. T_1 isoelétrico, T_2 difásico, T_3 negativo. RS-T, isoelétrico.
QT = 0"28.

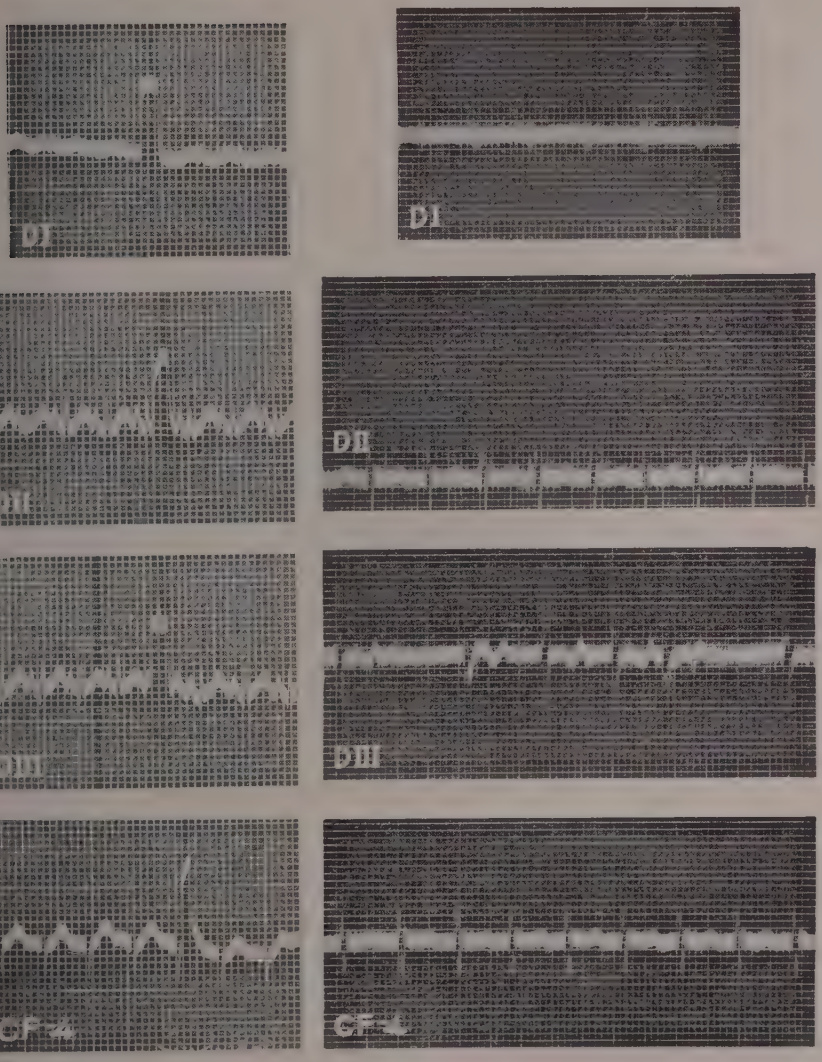
Conclusões:

Ritmo nodal. Extrasístole ventricular. Comprometimento do miocárdio ventricular.

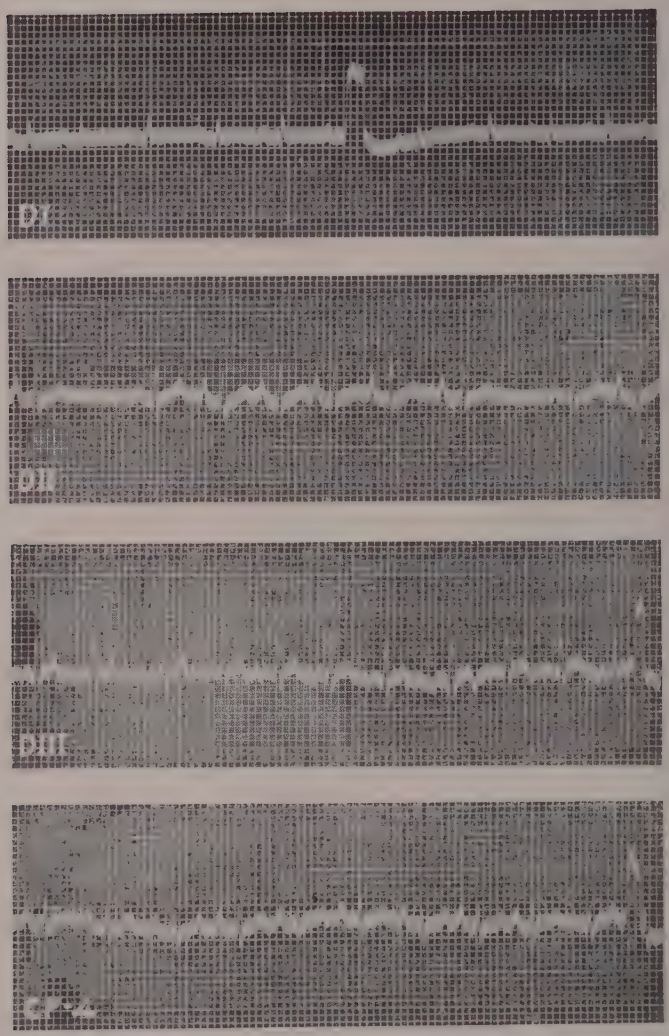
Exame histopatológico do Miocárdio:

Miocardite difusa pouco intensa. Numerosas formas de leishmanias.

CÃO - 107 3·IX·42 17·IX·1942



CÃO - 108

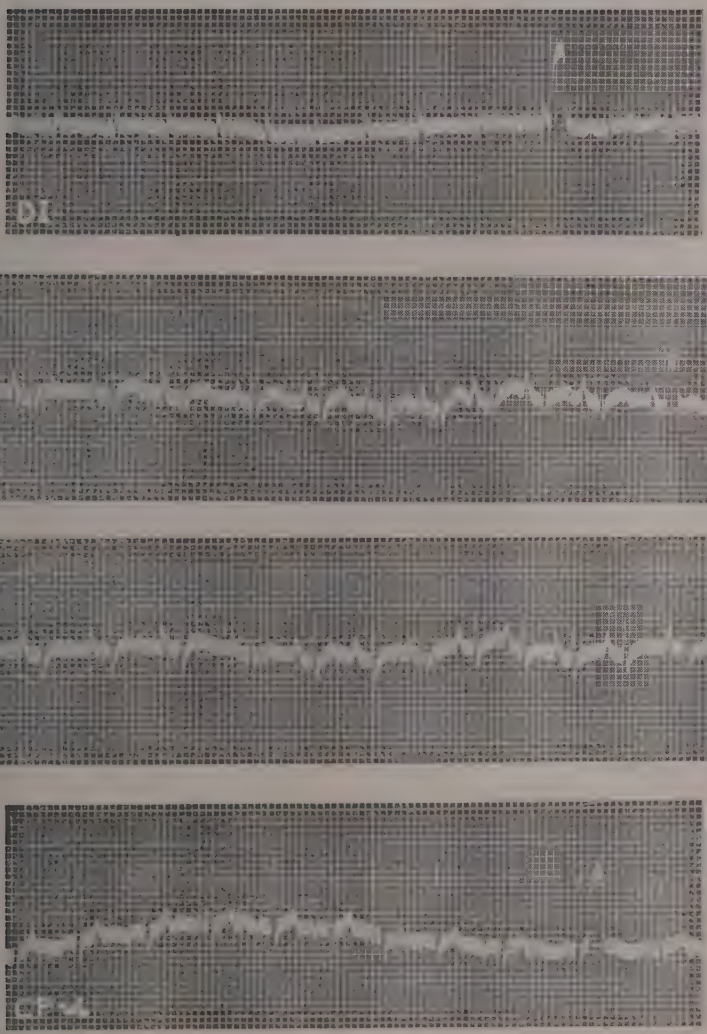


Cão 108

Ritmo de comando sinusal, com acentuada arritmia dêste mesmo centro. Freqüência de mais ou menos 150 batimentos por minuto. Eixo elétrico desviado para a direita. Ondas P. QRS e T, sem nada digno de nota. Junção RS-T, isoelétrica. QT = 0''18. Sistema de condução íntegro.

Conclusão: Ecg normal. *Exame histopatológico do Miocárdio*: Miocardite em foco. Ausência de leishmanias.

CÃO - 109



Cão 109

Ritmo de comando sinusal, com acentuada arritmia dêste mesmo centro. Freqüência de mais ou menos 166 batimentos por minuto. Eixo elétrico desviado para a direita. Não se observa qualquer anomalia de P. QRS e T. Junção RS-T, isoelétrica. QT = 0''20. Sistema de condução integro.

Conclusão: Ecg normal. *Exame histopatológico do Miocárdio*: Miocardite difusa infiltrativa. Auscncia de leishmanias.

III

Resultados. Conclusões:

Nos relatórios eletrocardiográficos que podemos ver nas páginas anteriores, existem várias alterações assinaladas e que são, em resumo:

A) Para o lado do ritmo

1 — Ritmo nodal.

B) Para o lado auricular

1 — P bífido;
2 — extrasístole;
3 — fibrilação (poderia ser incluída em A).

C) Para o lado de QRST

1 — Depressão de RS-T;
2 — Achatamento, difasismo e negatividade de T.
3 — Aumento de QT.
4 — Extrasístole.

Nor casos crônicos os eletrocardiogramas eram normais.

Nestes achados existem dois fatos, em particular, que merecem atenção. O primeiro dêles é que nem uma só vez encontramos lesões do sistema de condução. O segundo é que, nos casos de existência de cistos ou pseudocisto de formas de leishmanias, encontradas nos cães mortos na fase aguda, o ecg era anormal. Quando, porém, êles não existiam, como nos dois cães crônicos, o ecg era normal.

A interpretação fisiopatológica dêstes achados não nos parece simples. Por que não encontramos bloqueios nos casos agudos? Como se pode ver no corte de um dos nossos cães, a quantidade de leishmanias atinge proporções alarmantes. Pràticamente, tôdas as fibras estão lesadas. Seria lógico supor que também o sistema específico fosse alcançado, quando não por uma especificidade, nos moldes, por exemplo, do bacilo diftérico e da febre reumática, pelo menos por ação mecânica. No entanto, em todos os casos, êle foi poupado. Confessamos não possuirmos interpretação para êste fato.

Que os corações portadores de pequenos focos de miocardite sejam silenciosos ao eletrocardiograma só pode ser interpretado como tal acontecimento não ter ainda atingido a fundo a fisiologia miocárdica.

Finalmente, existe nos traçados uma particularidade interessante. E' o aumento de QT, da sístole elétrica.

Foram os seguintes, os resultados que encontramos:

Cão	101	0"16	para	0"28
"	107	0"16	"	0"28
"	106	0"16	"	0"34
"	103	0"16	"	0"28
"	102	0"16	"	0"32

Sem dúvida, êstes números são sugestivos. O aumento da sístole elétrica tem sido descrita em várias eventualidades. Das variações fisiológicas ligadas à freqüência, as patológicas encontradas na hipocalcemia, no enfarte, etc.

Nos nossos traçados, indiscutìvelmente, houve uma diminuição da freqüência, capaz de aumentá-la, mas, não houve a relação devida. Assim, por exemplo, no cão 102, em que a bradicardia era mais acentuada — 90 —, não foi, como deveria ser, o cão que apresentou maior sístole elétrica. Ao contrário disto, acima dêle, existiam números mais elevados.

Não queremos, de modo algum, concluir por êste simples achado, que o aumento de QT é igual a comprometimento miocárdico. Mas, parece-nos justo dizer que, nos nossos casos, o aumento da sístole elétrica somada às anomalias de RS-T e de T, comportaram o diagnóstico de comprometimento do miocárdio ventricular. Isto é tanto mais verdade quando se encontrou, posteriormente, apoio na histologia patológica.

BIBLIOGRAFIA

1) Alvayay, J., e Carnaval, V.

1941. Tripanosomosis cardíaca americana. Investigación clínica y electrocardiográfica. Comunicación preliminar. Revista Med. de Chile, LXIX (12) : 833-840, Diciembre.

2) Cardoso, Francisco A., e Rosenfeld, Gastão

1940. Moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. Rev. Cl. de São Paulo, 7(5): 155.

3) Chagas, Carlos, e Vilella, Eurico

1922. Forma cardíaca de tripanosomiase americano. Mem. Inst. Osv. Cruz., 14 (1) : 5.

4) Chagas, C.

1928. Sur les altérations du coeur dans la trypanosomiase américaine (Maladie de Chagas). Arch. Maladies du Coeur, 641-655.

5) Chagas, Evandro

1930. Estudo eletro-cardiográfico na forma cardíaca da trypanosomiase americana. A Folha Médica, 11 : 97, 113, 135.

6) Chagas, Evandro

1930. Forma cardíaca da trypanosomiase americana. Mem. I. O. C., XXIV (3) : 89.

7) Chagas, Evandro

1932. Novos estudos sôbre a forma cardíaca da trypanosomiase americana. Mem. I. O. C., 26 (3) : 329-338.

8) Couto Filho, Miguel

1936. Lesões do sistema específico do miocárdio num caso de tripanosomiase americana. O Hospital, 8 (II) 7 : 1223.

9) Mazza, Salvador; Cossio, Rufino (H); Zuccardi, E.

1937. "Primer Caso Agudo Grave de Enfermedad de Chagas Comprobado en Tucumán y su Tratamiento con Bayer 7602 (Ac.)" M.E.P.R.A. Publicación 32 : 3-18.

10) Mazza, Salvador; Lobos, Martin, M.

1937. "Casos de Enfermedad de Chagas y Animales Domésticos Infectados Naturalmente con S. Cruzi Comprobados en el Departamento de Trancas, Provincia de Tucumán." M.E.P.R.A. Publicación n.º 32, 18-33.

11) Mazza, Salvador; Basso, Germinal y Basso, Redento

1937. "Primer caso agudo de Enfermedad de Chagas comprobado en Mendoza." M.E.P.R.A. Publicatión 33, : 3-32.

12) Mazza, *Salvador;* Basso, Germinal y Jörg, Miguel Eduardo

1939. "Primer caso mortal de forma crónica cardíaca de Enfermedad de Chagas, comprobado en Mendoza." M.E.P.R.A. Publicación n.º 42, pás. 3-73.

13) Mazza, Salvador; Miyara, Salomon

1940. "Dos adultos con formas severas de Enfermedad de Chagas, uno con exantema (esquizotripanide) de la Prov. de San Juan." M.E.P.R.A. Publicación n.º 43, pág. 59-72.

14) Mazza, Salvador

1940. "Enfermedad de Chagas en las provincias de Salta y Jujuy" M.E.P.R.A. Publicación n.º 45, pás. 3-34.

15) Mazza, Salvador; Lovaglio, José

1940. "Primer caso de forma aguda de Enfermedad de Chagas por contaminación de picadura cutánea comprobado en Cafayate (Salta), caracterizado por bradicardia." — M.E.P.R.A. Publicación n.º 45, págs. 41-48

16) Mazza, Salvador; Lovaglio, José; Grondona, Bartolome

1940. "Sobre cinco casos de Enfermedad de Chagas, comprobados en Cafayate y Loro Huasi-Departamento de Cafayate (Salta)." M.E.P.R.A. Publicación n.º 45, págs. 49-85.

17) Mazza, Salvador; Lovaglio, José

1940. "Primeros casos de Enfermedad de Chagas comprobados en Departamento San Carlos (Salto). Uno sub-agudo, el primeiro con queratitis chagásica en el pais, y el otro crónico cardíaco." Publicación M.E.P.R.A. n.º 45, págs. 86-96.

18) MAZZA, Salvador; UNDIANO, Carlos

1940. "Índice de infestación de tritomídeos y casos agudos de Enfermedad de Chagas em La Mendieta, Dep. de San Pedro, Prov. de Jujuy." Publicación M.E.P.R.A. n.º 45, págs. 135-146.

19) MAZZA, Salvador; MIYARA, Salomon

1940. "Enfermedad de Chagas aguda con chagoma de inoculación y esquizotripanide polimorfa comprobado por histopatologia de biopsia de la lesion cutánea." Publicación M.E.P.R.A. n.º 46, págs. 85-104.

20) MAZZA, Salvador; BASSO, Germinal; BASSO, Redento

1940. "Comprobación en adulto de citoestestonecrosis subcutánea chagasica por siembra hematógena (Chagomas hematógenos) de S. cruzi." Publicación — M.E.P.R.A. n.º 48, págs. 3-30.

21) MAZZA, Salvador e outros

1941. "Esquizotripanides. Manifestaciones eruptivas agudas en la Enfermedad de Chagas (exantemas o roseolas)." Publicación M.E.P.R.A. n.º 51, págs. 3-74.

22) MAZZA, Salvador

1941. "Esquizotripanides. 11ª. Nota. Esquizotripanides urticariformes". Publicación M.E.P.R.A. n.º 52, págs. 3-31.

23) MAZZA, Salvador; MIYARA, Salomon

1941. "Esquizotripanides (111.ª Nota). Esquizotripanides eritematosas polimorfas". Publicación M.E.P.R.A. n.º 53, págs. 3-22.

24) MAZZA, Salvador; BASSO, Germinal; BASSO, Redento

1941. "Comprobacion por biopsia de la naturaleza chagásica de la esquizotripanide eritematosa polimorfa." Publicación M.E.P.R.A. n.º 56, págs. 3-29.

25) MAZZA, Salvador; BASSO, Germinal; BASSO, Redento

1942. "Ensayos terapéuticos del producto 9736 (As) Bayer y de su acción comparada con el 7602 (As) Bayer en la enfermedad de Chagas." Publicación M.E.P.R.A., n.º 61, págs. 3-76.

26) MAZZA, Salvador; BASSO, Germinal; BASSO, Redento

1942. "Enfermedad de Chagas en primer período diagnosticada exclusivamente por biopsia de ganglio linfático com hallazgo de parasitos leishmaniformes." Publicación M.E.P.R.A., n.º 63, págs. 3-48.

27) PINTO, Cesar

1942. "Tripanosomiasis Cruzi (Doença de Carlos Chagas) no Rio Grande do Sul. Brasil." Mem. I. O. C., 37 (4) : 443-537.

28) — TAQUINI, Alberto C.

1942. El electrocariograma en la enfermedad de Chagas experimental. Rev. Arq. Card., 8 : 115-121.

29) — VILLELA, Eurico

1930. A ocurrência da moléstia de Chagas nos hospitais de Belo Horizonte e na população de seus arredores. An. Faculd. Med. Un. Minas Gerais, II (1) : 1-18.

Contribuição para o estudo dos vetores de malaria no Brasil. Anopheles (Nyssorhynchus) Darlingi Root, em Campos, no Estado do Rio

por

J. O. Ccutinho

(Assistente da Faculdade de Medicina de São Paulo, em Comissão no Serviço Nacional de Malária)

e

Ivan Ricciardi

(Técnico do Serviço Nacional de Malária)

O *Anopheles darlingi* é, incontestàvelmente, um dos vetores autóctones de malária, mais potentes, do Brasil. Seu encontro com infecção pelas formas evolutivas dos plasmódios da malária não constitui mais um fato original; inúmeras foram as vêzes em que foi assinalado como responsável pela dessiminação dessa parasitose. Sua destribuição geográfica no nosso país abrange desde a Amazônia até o norte do Estado do Paraná. Não tivemos ainda oportunidade de encontrá-lo na região mais meridional do país; uma afirmativa nesse sentido depende, porém, deo bservação mais detalhada e de uma busca mais rigorosa.

O *darlingi,* via de regra, afasta-se da orla litorânea para internar-se em nosso território, principalmente no altiplano.

A natureza das águas colecionadas nas baixadas abrangidas pelas marés não se presta à evolução das suas larvas, o Cl Na em dissolução na água torna adverso o ambiente para as larvas do *darlingi,* pelo menos segundo temos observado até o presente.

Esta espécie é encontrada mesmo muito próximo do litoral, mas a sua maior incidência é justamente no altiplano Brasileiro, onde constitui quase que a única espécie transmissora da malária. Nós temos como exemplo a cidade de Vitória do Espírito Santo, banhada pelo mar, com inúmeras bacias

---

(*) Trabalho do Serviço Nacional de Malária do Departamento Nacional de Saúde.

sujeitas às marés e com o *darlingi* presente, todavia a espécie procura, para seus criadouros, nascentes e pequenos cursos de águas potáveis, sem Na Cl.

Aproveitamos, para esta nota, dados colhidos no município de Campos, em plena baixada Fluminense, zona baixa próxima ao litoral, mas sem influência das preamares. Também não é zona de planalto, ambiente ideal para o *A. darlingi.*

Duas localidades semelhantes serviram de base para êsse nosso estudo sumário de transmissores de malária, comparativo entre o *darlingi* e o *albitarsis* que incide no mesmo local, a sede do município de Campos e seus subúrbios e o distrito de Guarus, separado dessa cidade pelo rio Paraíba.

A cidade de Campos está situada à margem sul do rio Paraíba, enquanto na margem norte está Guarus e cidade de Palha.

A região constitui uma planície cortada pelo Paraíba, muito baixa, cheia de grandes depressões onde se formam grandes e pequenas coleções hídricas, além de numerosas valas que cortam essa planície, feitas com finalidade do secamento do terreno para misteres agrícolas. Há ainda um grande canal cortando a cidade, que sai do Paraíba e vai desembocar no rio Macaé, na cidade do mesmo nome, utilizado antigamente para ligação das duas cidades, hoje abandonado.

Êsse grande número de lugares com águas paradas em lagoas pròpriamente ditas e pequenas depressões criam ambiente favorável ao desenvolvimento do *darlingi* e a manutenção d uma densidade capaz de tornar a região endêmica. Favorecendo esta situação, o Paraíba durante suas grande enchentes transborda, inunda uma vasta área, deixando coleções de água disseminadas por tôda parte. De forma que a região é intensamente povoada por anofelínos, principalmente os de sub-gênero *Nyssorhynchus;* sem se falar na enorme quantidade de *Culex* que infesta a região.

A segunda localidade estudada foi Guarus, que na realidade é semelhante a Campos e cujos dados não podem ser separados. E' uma zona semelhante à primeira, sendo o terreno aí da mesma constituição e com os mesmos problemas de lagoas e depressões.

A malária aí, nesse local, é mais intensa que na cidade de Campos pròpriamente dita, e, deixando de lado a questão descritiva da região, passamos a analizar os detalhes específicos das nossas observações.

Para melhor orientação e compreensão dos trabalhos, examinaremos conjuntamente os dados das duas localidades estudadas.

Em Campos deixamos de investigar os índices maláricos, pois aproveitamos material colhido do serviço de assistência mantido pelo S. N. M., e por êles pudemos verificar que há muitos casos autóctones na cidade e em sua periferia, como também que Guarus, subúrbio de Campos, é parte mais atingida. Em 1943 registraram-se 110 casos autóctones em Campos e 491 em Guarus. Em 1944 até junho verificamos que a primeira deu 137 e a segunda 694, embora êsses dados não possam ser traduzidos em percentuais, mostram um elevado número de paludados. Anexamos os dados correspondentes nos quadros 1 e 2 — para melhor esclarecimento.

As pesquisas entomológicas foram o esteio principal de nossos estudos na região, onde procuramos esclarecer os conhecimentos da fauna anofélica local e estabelecer quais as espécies incriminaveis como vetores. Os únicos estudos que conhecemos datam de 1929, quando Decio Parreira assinalou a presença da *Cellia argyritarsis,* mas possìvelmente tratava-se do *A. darlingi* ou do *A. albitarsis,* que são aí domiciliares. Quanto ao *argyritarsis,* ao que nos parece, não é comum na região e muito menos nos domicílios. Egydio de Almeida também na mesma época assinalou a presença da *Cellia argyritarsis,* mas também pensamos tratar-se daquelas espécies e que tenha havido lapso de diagnóstico, pois eram bem conhecidos o *darlingi* e *albitarsis.*

Para êsse estudo dividimos o assunto em capítulos:

Conhecimento geral da fauna anofélica;

Conhecimento das espécies extradomiciliares;

Conhecimento das espéciess domiciliares;

Conhecimento dos vetores locais;

Estudo dos focos dos vetores;

Destribuição dos focos dos anofelinos na cidade.

QUADRO I

CASOS DE MALÁRIA VERIFICADOS EM CAMPOS E GUARUS DURANTE O ANO DE 1943

	CAMPOS		GUARUS		TOTAIS	
MÊS	AUTÓCTONES	IMPORTADOS	AUTÓCTONES	IMPORTADOS	AUTÓCTONES	IMPORTADOS
Janeiro	0	18	0	0	0	18
Fevereiro	3	62	13	0	16	62
Março	6	38	25	30	31	68
Abril	27	51	23	39	50	90
Maio	14	52	42	9	56	61
Junho	9	42	92	10	101	52
Julho	10	21	115	30	125	51
Agôsto	13	15	25	11	38	26
Setembro	14	25	88	74	102	99
Outubro	9	30	28	12	37	42
Novembro	4	16	12	11	16	27
Dezembro	1	28	28	19	29	47
TOTAIS	110	398	491	245	601	643

QUADRO II

CASOS DE MALÁRIA VERIFICADOS EM CAMPOS E GUARUS DURANTE O 1.º SEMESTRE DE 1944

	CAMPOS		GUARUS		TOTAIS	
MÊS	AUTÓCTONES	IMPORTADOS	AUTÓCTONES	IMPORTADOS	AUTÓCTONES	IMPORTADOS
Janeiro	7	33	96	27	103	60
Fevereiro	17	35	47	19	64	54
Março	12	40	29	6	41	46
Abril	61	115	28	5	89	120
Maio	150	186	61	8	211	192
Junho	137	81	49	9	186	90
TOTAIS	384	490	310	74	694	562

A fauna de Campos é composta de 8 espécies, sendo 1 do subgênero *Anopheles* e 7 do subgênero *Nyssorhynchus*, destribuídas como se vê abaixo.

A. (*Nyss.*) *albitarsis* Arribalzaga, 1878.
A. (*Nyss.*) *tarsimaculatus* Goeldi 1905 (= *A. emilianus* Komp, 1941).
A. (*Nyss.*) *triannulatus* (Neiva e Pinto, 1922).
A. (*Nyss.*) *darlingi* Root, 1926.
A. (*Nyss.*) *oswaldoi* (Peryassu, 1908).
A. (*Nyss.*) *noroestensis* Galvão e Lane, 1937.
A. (*Nyss.*) *possoai* Galvão e Lane, 1937.
A. (*An.*) *intermedius* Chagas, 1907.

Não encontramos variações morfológicas entre essas espécies, que nos detenham, mesmo deixamos meio de lado essa questão que não pretendemos discutir nesta nota. Apenas diremos que os exemplares de *darlingi* apresentam-se com a marcação do 2.º tarso posterior nos limites de 50%. A terminália dos machos e as larvas apresentam caracteres constantes como tem sido descritos pelos sistematistas. Os ovos apresentam o colarinho cefálico com elementos divergentes, e o exocório com elevação prateada, aliás a forma típica da espécie, não a apresentada por Root (1926).

O *albitarsis* encontrado é do tipo mais comum na região litorânea, marcação do 2.º tarso posterior do adulto variando entre 50 — 70%, terminália dos machos e larvas sem modificação digna de nota. O número de ovipósturas examinado foi muito pequeno, não podemos apresentar sugestões, mas encontramos ovos com desenho vestigial em mosaico no exocório, semelhante ao material do Distrito Federal assinalado por Coutinho, (1934), e também semelhante ao material que Galvão e Damaceno (1942) descreveram como a variedade *albitarsis domesticus*. O *triannulatus* que encontramos, apresenta-se com a mancha B2 da asa, vestigial. As larvas com os folíolos do pêlo protoráxico sub-mediano interno, fusiformes, parecidos com os dos pêlos palmados abdominais, os ovos com 2 rebordos e com o exocório apresentando granulações distintas. O material de *oswaldoi, tarsimaculatus, pessoai, intermedius,* e *noroestensis* é muito pouco para merecer um estudo, entretanto o pouco que examinamos, concorda com o que conhecemos em sistemática.

Obtivemos material tanto de capturas extradomiciliares ao relento, com isca humana e animal como de intradomiciliares. Em 5 capturas com isca humana obtivemos 12 *albitarsis*, que foram todos dissecados para exame de estômago e glândulas, com resultado negativo. Com isca animal, cavalo, o número de capturas foi 15 e destas 14 foram positivas ou seja 94,4% o percentual de positivas. Colhemos ao todo 1236 anofelinos, em 44 horas de trabalho noturno;

a média horária ou densidade de campo, bastante elevada atingiu 28, mostrando-se a região com intensa proliferação de anofelinos, embora em época relativamente sêca e fria.

Cinco espécies foram identificadas nesse material, e abaixo damos em ordem decrescente de suas respectivas percentagens.

A. (Nyss.) albitarsis	956	77,33%
A. (Nyss.) triannulatus	266	21,60%
A. (Nyss.) darlingi	9	0,73%
A. (Nyss.) noroestensis	3	0,25%
A. (Nyss.) oswaldoi	2	0,16%
	1.236	100,07%

Verificamos uma predominância do *albitarsis* sôbre as demais espécies, um pouco em contraste com o que se observa para êsse anofelino na Baixada Fluminense. O *darlingi*, embora presente, mostra sua preferência muito pouco acentuada pelo sangue animal, cavalo. No quadro 3 estão tôdas as capturas relacionadas ao tempo gasto e aos anofelinos capturados.

As capturas domiciliares realizadas foram divididas em 2 grupos, um grupo correspondente a captura feita durante o crepúsculo vesperal, e o outro â diurna. Os anofelinos foram todos colhidos vivos para exame de estômago e glândulas salivares.

Nas colheitas noturnas obtivemos melhores resultados que durante o dia. Ao que nos parece os *Nyssorhynchus* tendem a abandonar o domicilio após o repasto sanguíneo, para voltar depois â nova alimentação no homem.

Em 22 capturas 14 foram positivas, ou sejam 64% de positivas.

QUADRO III

CAPTURAS NOTURNAS COM ISCA ANIMAL

Capturas — Espécies

N.º	DATA	HORAS	*albitarsis*	*triannulatus*	*darlingi*	*noroestensis*	*oswaldoi*	TOTAL
2	3-6-44	1.5	38	2	0	0	0	40
10	7-6-44	2.5	249	80	2	0	0	331
13	10-6-44	3.0	81	41	0	0	0	122
16	12-6-44	2.5	11	1	0	0	0	12
22	20-6-44	4.0	69	36	4	0	1	110
24	21-6-44	4.0	33	2	0	0	0	35
28	22-6-44	3.0	3	2	0	0	0	5
30	26-6-44	3.5	44	0	0	0	0	44
32	28-6-44	3.5	18	6	0	1	0	25
37	30-6-44	3.5	35	3	0	0	0	38
42	3-7-44	2.5	280	44	0	1	0	325
44	4-7-44	3.0	74	3	0	0	1	78
53	13-7-44	2.5	16	34	2	1	0	53
55	13-7-44	2.5	—	—	—	—	—	—
60	14-7-44	2.5	5	12	1	0	0	18
15		39.50	956	266	9	3	2	1.236

Em 232 prédios inspecionados 70 mostravam-se com anofelinos, dando 30% de prédios positivos. Foram capturados 309 anofelinos em 71 horas de trabalho,, dando uma média horária de 4,3.

As espécies encontradas foram:

A. (*Nyss.*) *darlingi*	175	56,6%
A. (*Nyss.*) *albitarsis*	100	32,3%
A. (*Nyss.*) *triannulatus*	34	11,1%
	309	

Nas capturas domiciliares diurnas o número de anofelinos capturados foi muito menor, menos da metade dos obtidos nos trabalhos ao crepúsculo vesperal.

Efetuamos 21 capturas com 15 positivas, ou sejam 71,4%. Em 132 casas visitadas 94 mostraram-se com anfelinos, ou sejam 71,21% de prédios positivos.

As espécies encontradas nessas capturas foram as mesmas das capturas noturnas, e mais ou menos nas mesmas percentagens, sendo que o *triannulatus* apresentou-se em percentagem menor, mostrando-se com muito pouca tendencia a permanecer nos domicílios.

A. (*Nyss.*) *darlingi*	65	58,55%
A. (*Nyss.*) *albitarsis*	40	35,83%
A. (*Nyss.*) *triannulatus*	6	5,70%

O *darlingi* foi a espécie mais incidente nos domicílios, em contraposição com o que foi observado nos trabalhos com isca animal em que esta espécie compareceu só em 0,73% dos casos.

O *albitarsis* mostrou-se também freqüente, sua percentagem de 32,3% foi muito inferior às com isca animal, e vemos por aí que esta espécie é pouco atraída pelo domicílio. Prefere o sangue animal ou suga mais o homem fora das habitações. Os exemplares de *triannulatus* eram, via de regra, pegados em casas, onde se notava a presença de animais domésticos cohabitando com o homem. Os quadros 4 e 5 dão os resultados obtidos nos dois grupos de capturas.

Espécies vetoras locais — Com o material procedente das capturas domiciliares noturnas e diurnas verificamos que o *A.* (*Nyss.*) *darlingi* é o principal vetor, e que o *albitarsis* é bem menos importante, pelo menos na época em que êsses dados foram colhidos.

QUADRO IV

CAPTURAS DOMICILIARES NOTURNAS

Capturas — Espécies

N.º	DATA	HORAS	N.º DE CASAS	*A. darlingi*	*A. albitarsis*	*A. triannulatus*	TOTAL
5	4-6-44	5.25 m.	27	16	1	0	17
6	5-6-44	4.40 m.	27	7	0	0	7
8	7-6-44	3.45 m.	12	5	1	4	10
12	10-6-44	4.00	22	4	0	2	6
20	20-6-44	3.35 m.	10	16	12	5	33
25	21-6-44	4.15 m.	12	17	19	4	40
27	22-6-44	2.45 m.	12	1	0	0	1
33	28-6-44	3.30 m.	14	5	2	1	8
35	29-6-44	2.00	3	13	4	1	18
39	3-7-44	3.45 m.	3	17	10	0	27
40	3-7-44	3.45 m.	3	32	11	3	46
52	13-7-44	3.00	6	23	2	14	39
56	13-7-44	1.30 m.	2	2	5	0	7
58	14-7-44	3.30 m.	6	17	33	0	50
—	—	22.30 m.	73	—	—	—	—
		71.55 m.	232	175	100	34	309

QUADRO V

CAPTURAS DOMICILIARES DIURNAS

Capturas — Espécies

N.º	DATA	TEMPO	N.º DE CASAS	*A. darlingi*	*A. albitarsis*	*A. triannulatus*	TOTAL
4	4-6 44	1.30 m.	21	3	—	1	4
7	6-6-44	20 m.	1	1	—	—	1
11	7-6-44	30 m.	12	2	—	—	2
21	21-6-44	1.30 m.	10	10	2	1	13
26	22-6-44	45 m.	11	4	1	0	5
34	29-6-44	1.15 m.	14	2	—	—	2
36	30-6-44	—	1	1	—	—	1
43	4-7 44	45 m.	3	10	2	—	12
48	11-7-44	1.10 m.	3	17	7	1	25
50	11-7 44	1.00	1	3	—	—	3
51	12-7-44	0	1	—	—	1	1
54	14-7-44	1.05 m.	6	5	—	2	7
57	14-7-44	45 m.	3	1	2	—	3
59	14-7-44	10 m.	1	1	—	—	1
61	15-7-44	1.15 m.	6	5	26	—	31
—	—	4.45 m.	38	—	—	—	—
		16.45 m.	132	65	40	6	111

Analizando-se os quadros 6, 7 e 8, tem-se uma idéia de conjunto do material dissecado e positivo. Os índices de infecção natural foram:

A. darlingi — índice de infecção natural de oócistos, 6,8%; de esporozoítos, 4%.

A. albitarsis — índice de infecção natural de oócistos, 2%; de esporozoítos, 0%.

O *darlingi*, como dissemos linhas atrás, foi encontrado inumeras vêzes com infecção natural pelos plasmódios parasitos da malária. Assim é que na Bacia Amazônica, DAVIS, (1931) assinala êsse anofelino como vetor em Belem do Pará, encontrando índice oocístico de 22% e índice esporozóitico de 5%.

SHANNON (1933) constatou em Pôrto-Velho, que esta espécie se apresentava com infecção natural de plasmódio, dando 9% para oócisto e 1.8% para esporozoitos. Ainda na Amazônia, GALVÃO e DAMACENO e MARQUES (1942) encontraram essa espécie com infecção natural na percentagem de 0,31%, aliás, índice bastante baixo comparado ao de DAVIS, em Belém, e ao de SHANNON em Pôrto-Velho. Em nossos trabalhos realizados em Teresina no Piauí encontramos a espécie em domicílio, e dissecamos 3 exemplares de *darlingi*, sendo um dêles positivo para oócisto, o índice nesse caso seria 33,33%, o que é bastante elevado, defeito de pequeno número de observações.

DAVIS e KUMM (1932) verificaram em França na Bahia, que durante um surto epidêmico de malária, o *darlingi* era o vetor, encontrando êsses autores 27,5% de estômagos positivos e 7,4% de glândulas salivares com esporozoitos.

QUADRO VI

MATERIAL DISSECADO PROCEDENTE DE CAPTURAS DOMICILIARES NOTURNAS — ESTÔMAGOS E GLÂNDULAS

ESPÉCIES	ESTÔMAGOS				GLÂNDULAS			
	POSIT.	NEGAT.	DISSEC.	%	POSIT.	NEGAT.	DISSEC.	%
A. darlingi.....	11	137	148	8	2	37	39	5,1
A. albitarsis.....	2	83	85	2,4	0	4	4	0
A. triannulatus....	0	23	23	0	0	3	3	0
TOTAIS.....	13	243	256	5,3	2	44	46	4,6

QUADRO VII

MATERIAL DISSECADO PROCEDENTE DE CAPTURAS DOMICILIARES DIURNAS — ESTÔMAGO E GLÂNDULAS

ESPÈCIES	ESTÔMAGOS				GLÂNDULAS			
	POSIT.	NEGAT.	DISSEC.	%	POSIT.	NEGAT.	DISSEC.	%
A. darlingi.....	3	54	57	5,2	0	7	7	0
A. Albitarsis.....	0	20	20	0	0	1	1	0
A. triannulatus....	0	4	4	0	0	1	1	0
TOTAIS.....	3	78	81	3.7	0	9	9	0

QUADRO VIII

TODO MATERIAL DISSECADO

ESPÉCIES	POSIT.	NEGAT.	DISSEC.	%	POSIT.	NEGAT.	DISSEC.	%
A. darlingi.....	14	191	205	6.8	2	44	46	4
A. albitarsis.....	2	103	105	2	0	5	5	0
A. triannulatus....	0	27	27	0	0	3	3	0
TOTAIS.....	16	321	337	47	2	52	54	3.7

Seguem-se os trabalhos realizados em São Paulo, onde a espécie tem sido largamente estudada. CORREIA (1941) assinalou a espécie com infecção natural em Pôrto Feliz, encontrando 8,1% de estômagos com oócistes. GALVÃO e GRIECO (1941) também encontraram o *darlingi* com infecção natural, no município de São Paulo, sendo 6.66% de estômagos positivos e 1.9% de portadoras de esporozóitos nas glândulas salivares; CORREIA e RAMOS em Pôrto Taquari (1941) verificaram o *darlingi* com 6,0% de estômagos com oócistos. FONSECA, BRAGANÇA, COVELLI e ZWICKER (1941) encontraram no *darlingi* no município de São Paulo 4% de estômagos com cócistos. Sôbre a potencialidade vetora há o trabalho de GALVÃO e GRIECO, 1943, *in* CORREIA (1944), em que êsses autores conseguiram a infecção natural até cócistos, em 50% dos exemplares que sugaram um portador de *Pl. vivax*.

Essa espécie, ao lado de sua domesticidade bem acentuada, é sempre um bom vetor natural, também muito receptível aos plasmódios em condições experimentais.

No Distrito Federal, Brasil, embora seja uma zona bastante influenciada por água salgada, foi encontrada com infecção natural por um de nós, (1942) em Santa Cruz, como também na estrada Rio-Petrópolis (Fazenda Camboaba no município de Duque de Caxias), trabalho ainda em confecção.

PESQUISAS LARVÁRIAS EFETUADAS EM CAMPOS

O estudo feito neste sentido visou mais o conhecimento exato dos focos preferenciais das especies vetoras, com particular referência ao *darlingi*, tornando-se necessário para isto que fizéssemos uma batida sistemática de tôdas as coleções hídricas existentes na área que foi estudada. Não só localizamos os criadouros do *darlingi* e *albitarsis*, como os das demais espécies existentes na região. A procura de focos estendeu-se a tôda a área urbana e suburbana, como ainda a um raio de 2 quilômetros na zona rural na periferia da cidade. Nessas pesquisas larvárias colecionamos 15.566 larvas, das quais 2.371 foram indiagnosticáveis por estarem ainda em primeiro e segundo estádios evolutivos. Encontramos as espécies que relacionamos abaixo em ordem decrescente e com as respectivas percentagens.

A. albitarsis	11.194	84,848%
A. triannulatus	1.484	11,246%
A. darlingi	488	3,637%
A. noroestensis	14	0,116%
A. pessoai	11	0,083%
A. tarsimaculatus	2	0,015%
A. oswaldoi	1	0,007%
A. intermedius	1	0,007%
	13.195	100,000%

QUADRO IX

LARVAS EM PRIMEIRO E SEGUNDO ESTÁDIOS 2.371

FOCOS		ESPÉCIES ENCONTRADAS								
TIPO	QUANTIDADE	*darl.*	*albt.*	*trian.*	*tarsi.*	*norocest.*	*osw.*	*pess.*	*int.*	TOTAIS
Lagoa	41	90	6.757	1.161	2	9	0	1	0	8.020
Vala	12	123	611	105	0	1	0	0	0	840
Brejo	13	124	3.486	208	0	4	1	10	1	3.834
E. artificial	8	39	331	0	0	0	0	0	0	370
Canal	3	107	4	10	0	0	0	0	0	121
Pegadas	1	2	4	0	0	0	0	0	0	6
Poço	1	3	1	0	0	0	0	0	0	4
	79	488	1.194	11.484	2	14	1	11	1	13.195

QUADRO X

DESCRIMINAÇÃO DOS FOCOS PESQUISADOS E AS ESPÉCIES ENCONTRADAS

FOCOS		ESPÉCIES								
N.º	TIPO	*darl.*	*albi.*	*trian.*	*noroest.*	*osw.*	*pess.*	*int.*	*tars.*	TOTAIS
1	Lagoa.....	6	0	0	0	0	0	0	0	6
2	Lagoa.....	12	0	0	0	0	0	0	0	12
3	Lagoa.....	11	0	0	0	0	0	0	0	11
4	Vala.....	8	0	0	0	0	0	0	0	8
5	Vala.....	10	23	0	0	0	0	0	0	33
6	Lagoa.....	6	9	0	0	0	0	0	0	15
7	Vala.....	74	123	—	—	—	—	—	—	197
8	Pegada.....	2	4	—	—	—	—	—	—	6
9	Brejo.....	36	122	3	—	—	—	—	—	161
10	E. artificial.....	1	—	—	—	—	—	—	—	1
11	Brejo.....	—	41	—	—	—	—	—	—	41
12	Lagoa.....	—	375	140	—	—	—	—	—	515
13	Lagoa.....	6	32	0	—	—	—	—	—	38
14	Lagoa.....	4	—	—	—	—	—	—	—	4
15	E. artificial.....	25	6	—	—	—	—	—	—	31
16	Lagoa.....	2	86	—	—	—	—	—	—	88
17	Lagoa.....	—	267	3	—	—	—	—	—	270
18	Lagoa.....	0	130	410	—	—	—	—	—	540
19	Vala.....	1	140,	25	—	—	—	—	—	166
20	Lagoa.....	6	40	4	1	—	—	—	1	52
21	Lagoa.....	—	110	1	—	—	—	—	—	111
22	E. artificial.....	—	15	—	—	—	—	—	—	15
23	Vala.....	—	10	—	—	—	—	—	—	10
24	Canal.....	104	—	—	—	—	—	—	—	104
25	Vala.....	21	102	—	—	—	—	—	—	123
26	E. artificial.....	—	115	—	—	—	—	—	—	115
27	E. artifical.....	4	—	—	—	—	—	—	—	4
28	E. artificial.....	5	130	—	—	—	—	—	—	135
29	Lagoa.....	—	119	—	—	—	—	—	—	119
30	Lagoa.....	—	15	1	—	—	—	—	—	16
31	Lagoa.....	—	—	—	6	—	—	—	—	6
32	Vala.....	—	1	1	—	—	—	—	—	2
33	Lagoa.....	—	258	207	—	—	—	—	—	465
34	Brejo.....	—	144	—	—	—	—	—	—	144
35	E. artificial.....	1	65	—	—	—	—	—	—	66
36	Lagoa.....	5	138	—	—	—	—	—	—	143
37	Brejo.....	—	223	—	—	—	—	—	—	223
38	Canal.....	—	2	10	—	—	—	—	—	12
39	Vala.....	1	9	12	—	—	—	—	—	22
40	E. artificial.....	3	—	—	—	—	—	—	—	3
41	Brejo.....	1	300	7	—	—	—	—	—	308
42	Lagoa.....	10	28	13	—	—	—	—	—	51
43	Lagoa.....	—	71	30	—	—	—	—	—	101
44	Lagoa.....	—	20	49	—	—	—	—	—	69

QUADRO X

DESCRIMINAÇÃO DOS FOCOS PESQUISADOS E AS ESPÉCIES ENCONTRADAS

FOCOS		ESPÉCIES								
N.º	TIPO	*darl.*	*albi.*	*trian.*	*neroest.*	*tars.*	*osw.*	*pess.*	*int.*	TOTAIS
45	Lagoa	—	5	67	—	—	—	—	—	72
46	Lagoa	—	100	19	—	—	—	—	—	119
47	Lagoa	1	168	20	—	—	—	—	—	189
48	Lagoa	—	323	39	—	—	—	—	—	362
49	Lagoa	—	276	—	—	—	—	—	—	276
50	Lagoa	2	223	57	—	—	—	—	—	282
51	Lagoa	—	173	31	—	1	—	—	—	205
52	Lagoa	—	138	3	—	—	—	—	—	141
53	Lagoa	1	170	32	—	—	—	—	—	203
54	Vala	—	—	—	—	—	—	—	—	—
55	Lagoa	2	100	1	—	—	—	—	—	103
56	Lagoa	3	269	7	—	—	—	—	—	279
57	Lagoa	2	154	—	—	—	—	—	—	156
58	Lagoa	—	96	6	—	—	—	—	—	102
59	Lagoa	2	304	9	—	—	—	—	—	315
60	Vala	—	67	—	—	—	—	—	—	67
61	Lagoa	—	1.314	6	—	—	—	—	—	1.320
62	Brejo	—	448	26	—	—	—	1	—	475
63	Lagoa	—	12	—	—	—	—	—	—	12
64	Brejo	—	585	—	—	—	—	1	—	586
65	Vala	1	90	—	1	—	—	—	—	92
66	Canal	3	2	—	—	—	—	—	—	5
67	Brejo	1	28	—	—	—	—	—	—	29
68	Lagoa	2	98	1	1	—	—	—	—	102
69	Lagoa	4	165	—	—	—	—	1	—	170
70	Lagoa	—	411	—	—	—	—	—	—	411
71	Brejo	1	23	5	—	—	—	—	—	29
72	Lagoa	3	354	3	—	—	—	—	—	360
73	Lagoa	—	201	—	1	—	—	—	—	202
74	Brejo	3	567	76	—	—	—	—	—	646
75	Brejo	50	428	24	4	—	—	7	1	514
76	Brejo	13	327	17	—	—	1	—	—	358
77	Poço	3	1	—	—	—	—	—	—	4
78	Brejo	20	278	22	—	—	—	1	—	321
79	Vala	7	46	67	—	—	—	—	—	120
		489	11.217	1.454	14	2	1	11	1	13.189

Larvas em primeiro e segundo estádio 2.371

TOTAL GERAL 15.560

Com uma pronunciada proliferação de *albitarsis*, era de supor que esta espécie procurasse com mais freqüência os domicílios, tendo-se em conta que é nessa região de baixada de litoral que ela se manifesta com maior tendência a antropofilia. O *darlingi* muito menos freqüente nos criadouros subrepujou a primeira dentro das habitações humanas, mostrando-se assim de hábitos, acentuadamente, antropófilos. O número de focos encontrados elevou-se a 79 sendo que 46, ou sejam 58,5%, apresentavam larvas dessa espécie; êstes focos mostravam-se sempre pobres em larvas.

O quadro 9 demonstra que o maior número de focos com esta espécie foi em lagoas, embora a maior quantidade de larvas tenha sido encontrada em canal, o canal Campos-Macaé. Os focos de vala de drenagem a céu aberto também se mostravam muito produtivos. No quadro 10 damos detalhadamente cada foco e as espécies encontradas, vemos que o *darlingi* sempre está cohabitando com outras espécies, com o *triannulatus* e o *albitarsis*.

Verificamos que nessa região o *darlingi* se cria indiferentemente em águas, recebendo insolação direta ou indiretamente, em águas volumosas, como as lagoas com vegetação flutuante (*Eichornia* sp), ou em valas de drenagem, e pegadas de animais, pouco profundas, com água relativamente turva, com ou sem vegetação aquática. Ao que nos parece as grandes coleções servem como criadouros de resistência da espécie, que se disseminam por grande número de coleções hídricas, na época das maiores precipitações. E' o que podemos considerar a dispersão dos focos de uma espécie.

A questão de preferência do *darlingi* para certos criadouros tem sido abordada por vários autores. A questão tem sido encarada para zonas muito restritas e por espaço de tempo relativamente pequeno, daí encontrarmos certa divergência na opinião dos estudiosos do assunto. Encarando-se a questão para vastas regiões, vamos colher observações enquadradas perfeitamente bem, dentro do que os autores têm descrito. Assim é que Barreto (1939) em magnífico trabalho realizado em Palmeiras, no Estado de São Paulo, encontrou a espécie proliferando intensamente na margem de uma represa de água muito limpa e com sombra parcial, com as oscilações de pH sempre de amplitude reduzida, entre 6,8 — 7.2. Êsse tipo de criadouro podemos taxá-lo como um foco de resistência da espécie.

Tipo semelhante a êstes foi verificado por Galvão (1940), na reprêsa do rio Grande nas vizinhanças do município de São Paulo. Correia (1941) verificou que a espécie tem preferência pelos remansos de rio, com vegetação flutuante (*Eichornia* sp); fato semelhante Grieco (1941) observou em remansos do rio Pinheiros no município de São Paulo.

Os trabalhos de ROOT (1926), quando êste autor descreveu a espécie, estão realmente muito de acôrdo com o que temos encontrado na baixada Fluminense. Os focos dessa espécie variam bastante de tipo, afastando-se dos do tipo clássico encontrado no planalto. Verificamos, assim, em alguns pontos trabalhados por ROOT, o *darlingi* criando em pequenas coleções de água, diretamente ensolaradas, água de pouca profundidade, turva e com variações grandes de temperatura. Em Campos, também na baixada Fluminense, os focos de *darlingi* tanto se assemelham aos do planalto como aos da baixada. São os focos em canais e valas de drenagem aberta os mais produtivos. Até em sulcos de veículo e depressões de cascos de animal temos enocntrado a espécie.

Um estudo completo sôbre os focos preferenciais urge que se faça, tomando-se amostras de várias regiões.

O trabalho de SHANNON 1933 mostra também que a espécie é encontrada em alagados, tipo que rotulamos como brejos, assim como viu êsse autor em Pôrto-Velho, Guajará-Mirim, Manaus, etc. Em Bia-Vista observou que os alagados onde a mata fôra derrubada era o foco eletivo da espécie. Em Itaguaí, Estado do Rio, encontramos focos abundantes em brejos, semelhantes aos de SHANNON.

Estudo, ao nosso ver mais completo até hoje sôbre os criadores de *A. darlingi* foi o de GALVÃO, DAMACENO e MARQUES (1942), na Amazônia. Nesse estudo os autores tiveram oportunidade de examinar criadouros de uma vasta região do vale do Amazonas.

Assim é que êles tiveram oportunidade tanto de observar focos em águas volumosas com temperatura constante, como em pequenas coleções, depressões, pegadas, poço sem revestimento, em que o ambiente é muito diverso do das grandes coleções hídricas. Essas observações são muito aproximadas do que se verifica na baixada. Como vimos para a cidade de Campos a maioria dos focos são os de pequeno volume, com água turva, com variações de temperatura em grande amplitude; nessa cidade verificamos também os tipos clássicos de focos do planalto, lagoas de água limpa, com vegetação flutuante.

Vemos por êsse leve apanhado bibliográfico sôbre os criadores do *darlingi*, associado aos nossos dados colhidos, que êste anofelino se comporta de duas maneiras em relação aos seus focos.

No litoral a espécie prolifera tanto nas grandes coleções hídricas como nas águas de pequeno volume; seus criadouros são tanto em água limpa como

em água com certa turbidez, e a água dos focos apresenta-se ora com temperatura de oscilação grande, ora pouco variável.

Para um bom conhecimento da espécie é preciso que se faça dentro das mesmas normas observações no litoral e no planalto.

RESUMO

Os autores relatam nesse trabalho observações colhidas no estudo da fauna anofélica da cidade de Campos, Estado do Rio. Assinalaram a presença das espécies *A. arbitarsis, A. darlingi, A. triannulatus, A. oswaldoi, A. noroestensis, A. pessoai* e *A. intermedius.*

Em capturas domiciliares foram assinalados o *darlingi, albitarsis* e *triannulatus,* sendo êste último encontrado em pequeno número e nas casas em que animais domésticos cohabitavam com o homem, dormindo sob o mesmo teto.

Como vetores locais encontraram o *A. darlingi* com 6.8% de oócistos e 4% de esporozoítos, o *albitarsis* com 2% de oócistos e as glândulas negativas para esporozoítos.

Fizeram os A.A. um estudo sumário dos criadouros, assinalaram que as larvas do *darlingi* tanto podem ser encontradas nas grandes coleções hídricas, lagoas e canais, como em depressão do terreno e valas de drenagem a céu aberto.

Fizeram ainda uma revisão bibliográfica em relação a capacidade vetora do *darlingi* e sôbre a ecologia das suas larvas.

SUMMARY

We met with *A. albitarsis, A. darlingi, A. triannulatus, A. oswaldoi, A. noroestensis, A. pessoai* and *A. intermedius* in Campos city, Rio de Janeiro State; indoors catches: *darlingi, albitarsis* and *triannulatus,* the last in small numbers in buildings where men and domestic animals cohabitate; as malaria vectors: *darlingi* (6.8% oocyst-, 4% sporozoit- indices) and *albitarsis* (2% oocyst, 0% sporozoit-indices).

We are reporting a short study of the breeding places and pointing out that *darlingi* larvae breed in greater water collections, pond and channels as well as in small pools and drainage ditches under open sky.

We are presenting a revision of the literature concerned with *darlingi* as a vector and with the ecology of their larvae.

BIBLIOGRAFIA

1) Parreira, D.

1929. Inspecção e reconhecimento para serviço anti-malárico, procedido em Guarulho Am. Terc. Congress. Brasil. Higiene — págs. 225-232

2) Almeida, A. E.

1929. Projeto de combate à malária em Guarulhos. Am. Terc. Congress. Brasil. de Higiene — págs. 341-352.

3) Root, F. M.

1926. Studies ou Brazilian Mosquitoes — I — The Anophelines of the *Nyssorhynchus* Group — Am. Jour. Hyg. — (5): 648-917.

4) Coutinho, J. O.

1943. Contribuição para o Estudo dos Transmissores de Malária no Distrito Federal, Brasil — Arq. de Higiene 12 (3) : 7-13.

5) Galvão A. L. A. e Damaceno, R. G.

1942. Observações sôbre anophelinos do complexo *albitarsis* (Diptera-Culicidae) Rev. ass. Facul. Med. 21 (4) : 280-281.

6) Davis, N. C.

1931. A Note on the Malaria Carrying Anopheline em Belem, Para and Natal, Rio Grande do Norte, Brazil — Rev. Mal. 10 (1) : 43-51.

7) Shannon, R. C.

1933. Anophelines of the Amazon Valley — Proc. Ent. Soc. Wash. 33 (7) : 117-143.

8) Galvão A. L. A., Damaceno, R. C. e Marques, A. P.

1942. Algumas observações sôbre a biologia dos anofelinos de importância epidemiológica de Belém do Pará. — Arq. de Higiene 12 (2) : 51-112.

9) Davis, N. C. e Kumm, H. H. N.

Further incrimination of *Anopheles Darlingi* Root as transmiter of malaria. — Am. Jour. Trop. 12 (1) : 93-95.

10) Correia, R. R.

1941. Observações sôbre o *Anopheles* (*N.*) *darlingi* Root, 1926, no Estado de São Paulo — Rev. Biol. e Higiene — 11 (1) : 40-54.

11) Galvão, A. L. A. e Grieco S. J.

1941. Infecção natural do *Anopheles* (*N*) *darlingi* pelos parasitos da malária nos arredores de São Paulo — Rev. de Biologia 11 (1) : 61-64.

12) Correia, R. R.

1941. Do encontro do *A.* (*N*) *darlingi* Root, 1926 e do *A.* (*N*) *oswaldoi* var. *metcalfi* Galvão e Lane, 1937 naturalmente infectados com os parasitados maláricos na região sul do Estado de São Paulo. Fôlha Clínica e Biologia 13 (6) : 183-191.

13) Fonseca, F., Bragança F., Covelli e Zuincker

1941. Verificação do *Anopheles* (*N*) *darlingi* naturalmente infectado no município de São Paulo. Rev. Paul de Med. — 19 (5) : 199.

14) Galvão, A. L. A., Correia, R. R. e Grieco S. J.

1943. in Correia, R. R. 1943 — Arq. de Hig. e Saúde Pública — 8 (19) : 119-132.

15) Coutinho

1944. Trabalho em confecção.

16) Barreto, M. P.

1938. Observações sôbre a Ecologia do *A. darlingi* Root, 1926, var. *paulitensis*, Galvão, Lane e Correia, 1937. Rev. Biol. Hig. 9 (2) : 116-132.

17) Grieco, S. J.

1943. Estudo clínico e epidemiológico da Malária no município de São Paulo. — Arq. Cir. Clin. Exp. — 7 (3-4) : 107-299.

Imprensa Nacional — Rio de Janeiro — Brasil — 1945